



⑮ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift
⑩ DE 196 08 123 A 1

⑤① Int. Cl.⁸:
G 01 J 3/42
G 01 N 21/47
G 01 N 21/31

⑳ Aktenzeichen: 196 08 123.8
㉔ Anmeldetag: 2. 3. 96
㉕ Offenlegungstag: 4. 9. 97

DE 196 08 123 A 1

㉑ Anmelder:
MBR Messtechnik GmbH, 58313 Herdecke, DE

㉒ Vertreter:
BOEHMERT & BOEHMERT, 24105 Kiel

㉓ Erfinder:
Jungmann, Holger, Dr., 45896 Gelsenkirchen, DE;
Schietzel, Michael, Dr., 58313 Herdecke, DE

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ Spektrographisches Verfahren zur Bestimmung der absoluten Konzentration

⑤⑦ Spektroskopisches Verfahren zur Bestimmung der absoluten Konzentration c eines bezüglich seines Absorptionskoeffizienten A bekannten Stoffes in einer aus ansonsten spektroskopisch nicht bekannten Stoffen bestehenden trüben Probe, wobei

- in einer ersten Messung die Reflexion R und der Extinktionskoeffizient ε der Probe ermittelt werden,
- in einer anderen Messung, bei der ein bezüglich seines Extinktionskoeffizienten ε_1 und seines Streukoeffizienten S_1 bekanntes Medium zwischen die Lichtquelle und der Probe eingebracht ist, die optische Eigenschaft L anhand der Gleichung

$$L = A'(\lambda)/S'(\lambda) = c \cdot a_1(\lambda) / (S(1) + S_1(\lambda))$$

ermittelt wird und

- die Konzentration c der Substanz anhand der Gleichung

$$c = (L/\varepsilon) * (A/0,5 * (1/R) - 1) + S_1 - \varepsilon_1/\varepsilon$$

ermittelt wird.

DE 196 08 123 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein spektographisches Verfahren zur Bestimmung der absoluten Konzentration c eines bezüglich seines Absorptionskoeffizienten A bekannten Stoffes in einer aus ansonsten spektroskopisch nicht bekannten Stoffen bestehenden trüben Probe.

Für die spektroskopische Konzentrationsbestimmung eines qualitativ bekannten Stoffes in einem Medium gilt das Lambert-Beersche Gesetz

$$E(\lambda) = \log(I_0/I) = \varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d \quad (1)$$

Dabei bedeutet:

I die Intensität des eingestrahlen Lichtes und I_0 die Intensität des durchgelassenen Lichtes, $\varepsilon(\lambda)$ der molare wellenlängenabhängige Extinktionskoeffizient, $E(\lambda)$ die Extinktion in Abhängigkeit der Wellenlänge λ , c die molare Konzentration der zu untersuchenden Substanz, d die optische Weglänge (z. B. Dicke der Meßküvette): Für die Gültigkeit des Lambert-Beersche Gesetz es sind die folgenden Voraussetzungen notwendig: Das eingestrahle Licht ist monochromatisch. Das eingestrahle Licht ist parallel.

Sind die obigen Voraussetzungen erfüllt und ist die optische Weglänge d bekannt, so kann die Konzentration einer Substanz mit bekanntem Extinktionskoeffizienten $\varepsilon(\lambda)$ bestimmt werden, wenn diese entweder der einzige Bestandteil der zu untersuchenden Lösung ist, oder alle weiteren Stoffe in der Lösung spektroskopisch bekannt sind.

In fast allen Fällen der in-vivo Spektroskopie ist jedoch die optische Weglänge nicht bekannt. Zum einen kann dies davon herrühren, daß die optische Weglänge nicht notwendig der kürzeste Weg in einem Medium ist. Dies ist zum Beispiel bei allen streuenden Medien der Fall. Durch die Streuung legt der Lichtstrahl eine längere Strecke im Medium zurück, als es etwa die Strecke: Lichteintritt-Lichtaustritt darstellt. Ebenso ist bei allen Reflexionsmessungen die optische Weglänge unbekannt. Auch hierbei legt der reflektierte Lichtstrahl einen unbekannten und im allgemeinen unbestimmbaren Lichtweg im Medium zurück. Besteht das durchleuchtete Medium zusätzlich aus optisch und quantitativ unterschiedlichen Substanzen, wie dies bei lebenden Geweben der Fall ist, so ist es aussichtslos, die Größe des optischen Lichtweg aus theoretischen Modellen oder aus Erfahrungswerten für eine spezielle Meßsituation vorherzusagen.

Die Bestimmung der optischen Weglänge, die im allgemeinen nicht mit der kürzesten Strecke: Lichteintritt-Lichtaustritt identisch ist, ist also eine notwendige Voraussetzung für eine Konzentrationsbestimmung.

Es ist die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein spektroskopisches Verfahren zur Bestimmung der absoluten Konzentration eines bezüglich seines Absorptionskoeffizienten bekannten Stoffes anzugeben, bei dem die Kenntnis der optischen Weglänge nicht erforderlich ist.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe dadurch gelöst, daß

— in einer ersten Messung die Reflexion R und der Extinktionskoeffizient ε der Probe ermittelt werden,

— in einer anderen Messung, bei der ein bezüglich seines Extinktionskoeffizienten ε_1 und seines Streukoeffizienten S_1 bekanntes Medium zwischen die

Lichtquelle und der Probe eingebracht ist, die optische Eigenschaft L anhand der Gleichung

$$L = A'(\lambda)/S'(\lambda) = c \cdot \varepsilon_1(\lambda)/(S_1 + S_1(\lambda))$$

ermittelt wird, und

— die Konzentration c der Substanz anhand der Gleichung

$$c = (L/\varepsilon) \cdot (A/(0,5 \cdot (1/R) - 1) + S_1) - \varepsilon_1/\varepsilon$$

ermittelt wird.

Die Unteransprüche geben vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung an.

Die Erfindung eliminiert durch eine definierte Veränderung des Streuverhaltens des zu untersuchenden Mediums den unbekannten streukoeffizienten, wodurch bei bekanntem Stoff, d. h. bekanntem $\varepsilon(\lambda)$, die Konzentration c absolut bestimmt werden kann.

Mit Hilfe der Theorie von Kubelka und Munck oder abgeleitet aus den Maxwell'schen Gleichungen kann das Reflexionsvermögen R bei unendlicher Schichtdicke des zu untersuchenden Stoffes abgeleitet werden. Für trübe Medien läßt sich die Bedingung der unendlichen stets Schichtdicke erfüllen, indem man die Schichtdicke erhöht, oder die Lichtintensität des eingestrahlen Lichtes verringert, z. B. durch Filter oder ähnliche optische Substanzen. Dann gilt:

$$A(\lambda)/S(\lambda) = 0,5(R(\lambda) + 1/R(\lambda)) - 1 \quad (2)$$

Dabei ist $A(\lambda)$ der Absorptions- und $S(\lambda)$ der streukoeffizient der Probe. (Zur Ableitung siehe etwa: G. Kortüm; Reflexionsspektroskopie, Springer-Verlag 1968).

Weiter gilt dann:

$$A(\lambda)/S(\lambda) = c \cdot \varepsilon(\lambda)/S(\lambda) \quad (3)$$

Dabei ist c die unbekannte Konzentration des Stoffes und $\varepsilon(\lambda)$ der Extinktionskoeffizient des Stoffes, dessen Konzentration c bestimmt werden soll. Da nun S in den meisten Fällen wellenlängenabhängig ist, kann bei unbekanntem $S(\lambda)$ die Konzentration c nicht absolut bestimmt werden.

Es sei: $A(\lambda)/S(\lambda) = (c \cdot \varepsilon(\lambda))/S(\lambda) = K$ die optische Eigenschaft der zu untersuchenden Probe. Zwischen Probe und Lichtquelle werden nun eine Substanz gebracht mit $\varepsilon_1(\lambda)$ und $S_1(\lambda)$, wobei beide optischen Parameter bekannt seien. Dann gilt für die neue optische Eigenschaft:

$$L = A'(\lambda)/S'(\lambda) = (c \cdot \varepsilon(\lambda) + \varepsilon_1(\lambda))/(S(\lambda) + S_1(\lambda)) \quad (4)$$

Gleichung 2) und 4) können nach $s(\lambda)$ aufgelöst und gleichgesetzt werde, also:

$$A/(0,5 \cdot (A/(0,5 \cdot (R + 1/R) - 1) + S_1) - \varepsilon_1/\varepsilon$$

Auflösen nach c :

$$c = (L/\varepsilon) \cdot (A/(0,5 \cdot (R + 1/R) - 1) + S_1) - \varepsilon_1/\varepsilon \quad (5)$$

In der Gleichung 5 sind ε_1 und S_1 bekannt, denn es sind die Streu- bzw. Extinktionskoeffizienten der bekannten Substanz, die zwischen Objekt und Lichtquelle eingefügt wird. L wird nach der Kubelka-Munck Theorie (Gleichung 2) gemessen. A ist ebenfalls bekannt, da vor-

ausgesetzt wurde, daß die zu analysierende Substanz in ihrem Absorptionsverhalten bekannt sein soll. ϵ ist der Extinktionskoeffizient, und R die Reflexion, die ohne die zu analysierende Probe gemessen worden sind. Damit ist c, die unbekannte Konzentration, exakt bestimmt. 5

kannte Medium eine Lichtleitfaser ist.

Um die Konzentration zu messen, sind also zwei Messungen insgesamt notwendig:

- 1) Messung der Reflexion der zu analysierenden Probe 10
- 2) Messung der Reflexion der Summe der zu analysierenden Probe und der bekannten Substanz.

Damit ist die unbekannte Konzentration durch Eliminierung des unbekannten Streuverhaltens durch Einbringung eines Mediums mit bekannten optischen Eigenschaften in den Strahlengang des einfallenden Lichtes ermittelt worden. 15

Vorausgesetzt worden ist, daß die unbekannten und bekannten Streukoeffizienten $S_1(\lambda)$ und $S(\lambda)$ sich addieren. Dies muß jedoch nicht der Fall sein. Jedoch gilt die Gleichung 4) stets für hinreichend kleine Umgebungen auf dem Spektrum des zu bestimmenden Stoffes. Ist zudem in einigen unterschiedlichen Umgebungen auch $\epsilon(\lambda)$ unterschiedlich, d. h. die Bedingung des charakteristischen Spektrums ist dort erfüllt, dann läßt sich Gleichung 4) für die unterschiedlichen Umgebungen lösen. 25

Bei der praktischen Ausführung der optischen Meßeinrichtung können verschiedene Medien, etwa eine Streuscheibe oder ein Filter mit bekanntem Streu- und Extinktionskoeffizienten benutzt werden. Um genaue Konzentrationsergebnisse zu erhalten, ist es notwendig, daß die Streu- und Absorptionskoeffizienten in der gleichen Größenordnung wie die zu untersuchende Substanz liegen. Durch Pulver mit definierten Teilchengrößenverteilungen kann jedoch jeder beliebige Streukoeffizient hergestellt werden. 30 35

Patentansprüche

1. Spektroskopisches Verfahren zur Bestimmung der absoluten Konzentration c eines bezüglich seines Absorptionskoeffizienten A bekannten Stoffes in einer aus ansonsten spektroskopisch nicht bekannten Stoffen bestehenden trüben Probe, dadurch gekennzeichnet, daß 40 45

- in einer ersten Messung die Reflexion R und der Extinktionskoeffizient ϵ der Probe ermittelt werden,
- in einer anderen Messung, bei der ein bezüglich seines Extinktionskoeffizienten ϵ_1 und seines Streukoeffizienten S_1 bekanntes Medium zwischen die Lichtquelle und der Probe eingebracht ist, die optische Eigenschaft L anhand der Gleichung 50 55

$$L = A'(\lambda)/S'(\lambda) = c \cdot \epsilon_1(\lambda)/(S_1(\lambda) + S_1(\lambda))$$

ermittelt wird, und

- die Konzentration c der Substanz anhand 60 der Gleichung

$$c = (L/\epsilon) \cdot (A/0,5 \cdot (1/R) - 1) + S_1 - \epsilon_1/\epsilon$$

ermittelt wird. 65

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das bezüglich seines Extinktionskoeffizienten ϵ_1 und seines Streukoeffizienten S_1 be-

- Leerseite -



①⑨ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Patentschrift**
⑩ **DE 198 31 424 C 2**

⑳ Aktenzeichen: 198 31 424.8-52
㉑ Anmeldetag: 14. 7. 1998
㉒ Offenlegungstag: 3. 2. 2000
㉓ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 28. 12. 2000

㉔ Int. Cl.⁷:
G 01 N 21/47
G 01 N 21/55
G 01 N 21/17
G 01 J 3/42
A 61 B 5/15

DE 198 31 424 C 2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

㉕ Patentinhaber:
MBR GmbH, 58313 Herdecke, DE

㉖ Vertreter:
BOEHMERT & BOEHMERT, 24105 Kiel

㉗ Erfinder:
Jungmann, Holger, Dr., 45896 Gelsenkirchen, DE;
Schietzel, Michael, Dr., 58313 Herdecke, DE

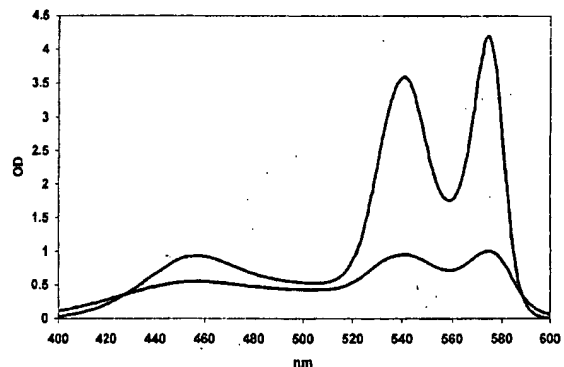
㉘ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

US 55 88 427
EP 08 10 429 A1

㉙ **Spektroskopisches Verfahren zur Bestimmung der Konzentration eines in einem streuenden Medium verteilten Stoffes**

- ㉚ Spektroskopisches Verfahren zur Bestimmung der Konzentration eines in einem streuenden Medium verteilten Stoffes, gekennzeichnet durch:
- gerichtetes Bestrahlen des Mediums mit Licht mit einem kontinuierlichen Spektrum,
 - Aufnehmen des in einer bestimmten Richtung von dem Medium, remittierten Lichts,
 - Ermitteln der Remission des remittierten Lichts als Funktion der Wellenlänge unter Inbezugsetzen zu einem Standard, z. B. Magnesiumoxid,
 - Einbringen eines absorptionsfreien definierten Streumediums, insbesondere einer Streuscheibe, in den Lichtweg,
 - Aufnehmen des in der bestimmten Richtung von dem Medium und dem eingebrachten Streumedium remittierten Lichts,
 - Ermitteln der Remission des von dem Medium und dem eingebrachten Streumedium remittierten Lichts unter Inbezugsetzen zu dem Standard,
 - Abbilden der ohne Streumedium ermittelten Remission auf die mit dem Streumedium ermittelten Remission,
 - Bestimmen der fraktalen Dimension der Abbildung, und
 - Ermitteln der Konzentration der Substanz aus der bestimmten fraktalen Dimension.

Oxygeniertes Hämoglobin mit unterschiedlich streuenden Zusatzstoffen



DE 198 31 424 C 2

Beschreibung

Die spektroskopische Bestimmung der Konzentration eines Stoffes in einem Medium kann mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes durchgeführt werden:

$$E(\lambda) = \log(I_0(\lambda)/I(\lambda)) = \varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d \quad (1)$$

Dabei bedeutet:

$I_0(\lambda)$ die Intensität des eingestrahnten Lichtes bei der Wellenlänge λ und I die Intensität des durchgelassenen Lichtes bei der Wellenlänge λ ,

$\varepsilon(\lambda)$ der molare wellenlängenabhängige Extinktionskoeffizient,

$E(\lambda)$ die Extinktion in Abhängigkeit der Wellenlänge λ ,

c die molare Konzentration der zu untersuchenden Substanz, und

d die optische Weglänge (z. B. Dicke der Meßküvette).

Eine wesentliche Voraussetzung für die Anwendbarkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes ist, dass das parallele Meßlicht innerhalb der Probe ebenfalls parallel ist. Diese Forderung ist gleichbedeutend damit, dass die Streuung der Probe null bzw. klein ist.

Sind die obigen Voraussetzungen erfüllt und ist die optische Weglänge d bekannt, so kann die Konzentration einer Substanz bestimmt werden, deren Extinktionskoeffizient bekannt ist. Dazu wird die Extinktion der Probe gemessen. Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz kann anschließend die Konzentration berechnet werden.

In fast allen Fällen der in-vivo Spektroskopie ist jedoch die optische Weglänge d nicht bekannt. Aus diesen Gründen kann das Lambert-Beersche Gesetz nicht angewendet werden. Der Grund für die Unkenntnis des optischen Weges d liegt im wesentlichen in der unterschiedlichen Streueigenschaft des zu untersuchenden Gewebes. Durch die Streuung legt der Lichtstrahl eine längere Strecke im Medium gegenüber der kürzesten Verbindung Lichteintritt – Lichtaustritt zurück.

Ebenso ist bei allen Reflektionsmessungen die optische Weglänge unbekannt. Auch bei diesen Messungen legt der reflektierte Lichtstrahl einen unbekannten und im allgemeinen unbestimmbaren Lichtweg im Medium zurück. Besteht das durchleuchtete Medium zusätzlich aus optisch und quantitativ unterschiedlichen Substanzen, wie dies bei lebenden Geweben der Fall ist, so ist es aussichtslos die Größe des optischen Lichtweg aus theoretischen Modellen oder aus Erfahrungswerten für eine spezielle Meßsituation zu bestimmen. Es werde also im weiteren der Fall betrachtet, wie er in der Gewebespektroskopie vorliegt, dass die untersuchten Substanzen wenig oder keine Streuung besitzen, so dass das Lösungsmittel bzw. die Stoffe, in der die zu untersuchenden Substanzen eingebettet sind, den hauptsächlichsten Anteil zur Streuung beiträgt.

Die Bestimmung der optischen Weglänge, die im allgemeinen nicht mit der kürzesten Strecke zwischen dem Lichteintritt und dem Lichtaustritt identisch ist, ist also eine notwendige Voraussetzung für eine Konzentrationsbestimmung auch in stark streuenden Medien.

Die Konzentrationsbestimmung nach dem Lambert-Beerschen Gesetz ist zwar die einfachste und verbreiteste spektroskopische Analysenmethode, zu ihrer Anwendungen müssen aber die oben beschriebenen Voraussetzungen erfüllt sein. Diese Methode ist daher nur unter Laborbedingungen durchführbar. In den Fällen, in denen die optische Weglänge unbekannt ist, kann die Konzentration des Stoffes nur bis auf eine multiplikative Konstante, also lediglich relativ bestimmt werden. Damit ist eine Absolutkalibrierung der Änderungen der Stoffkonzentration, nicht jedoch der

Stoffkonzentration selbst möglich.

Aus der EP 08 10 429 A1 ist ein spektroskopisches Verfahren zur Bestimmung der Konzentration eines in einem streuendem Medium verteilten Stoffes bekannt, bei dem das Medium bereits mit gerichtetem Licht mit einem kontinuierlichem Spektrum bestrahlt wird, das von dem Medium remittierte Licht aufgenommen wird und die Remission des remittierten Lichts als Funktion der Wellenlänge ermittelt wird. In der US 5 518 527 wird bereits die Bestimmung der fraktalen Dimension angesprochen, dies jedoch von einem zeitabhängigen Intensitätssignal.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung der absoluten Konzentration eines Stoffes in einem streuenden Medium zu schaffen, das keine vorherige Kenntnis der optischen und quantitativen Eigenschaften des streuenden Mediums verlangt.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe gelöst durch gerichtetes Bestrahlen des Mediums mit Licht mit einem kontinuierlichen Spektrum, Aufnehmen des in einer bestimmten Richtung von dem Medium remittierten Lichts, Ermitteln der Remission des remittierten Lichts als Funktion der Wellenlänge unter Inbezugsetzen zu einem Standard, z. B. Magnesiumoxid, Einbringen eines absorptionsfreien definierten Streumediums in den Lichtweg, Aufnehmen des in der bestimmten Richtung von dem Medium und dem eingebrachten Streumedium remittierten Lichts, Ermitteln der Remission des von dem Medium und dem eingebrachten Streumedium remittierten Lichts unter Inbezugsetzen zu dem Standard, Abbilden der ohne Streumedium ermittelten Remission auf die mit dem Streumedium ermittelten Remission, Bestimmen der fraktalen Dimension der Abbildung, und Ermitteln der Konzentration der Substanz aus der bestimmten fraktalen Dimension.

Voraussetzung für eine quantitative Spektroskopie ist die Kenntnis der Streuung der Substanzen und damit der optischen Weglängen. In der Abb. 1 ist das Reflektionsspektrum von oxigeniertem Hämoglobin in der oberen Kurve mit und in der unteren Kurve ohne zusätzlichem Streumedium aufgenommen. In beiden Fällen handelt es sich um die gleiche Menge an gelöstem Hämoglobin. Es wird sofort deutlich, dass die Anwendung des Lambert-Beerschen Gesetzes im Falle der Hämoglobinmessung mit einem streuenden Medium zu völlig falschen Konzentrationen führen würde.

In der Abb. 2 ist die Funktion f : Extinktion (Hb mit Streumittel) \rightarrow Extinktion (Hb ohne Streumittel) aufgetragen. Es wird deutlich, dass es sich bei der Funktion f um eine nicht-lineare Funktion handelt. Aus physikalischen Gründen ist f eineindeutig. Die Streuung hängt im wesentlichen von der Größe der Streupartikel im Verhältnis zur Wellenlänge des Lichtes und der Anzahl der streuenden Partikel ab. Denn für $\langle I_s(K) \rangle$, die mittlere gestreute Lichtintensität als Funktion des Wellenvektors K , gilt:

$$\langle I_s(K) \rangle = A I_0 c S(K)$$

Dabei gilt: I_0 ist die einfallende Lichtintensität, c die Partikelkonzentration, $S(K)$ beschreibt die mittlere Interferenz zwischen den Teilchen, A ist eine Konstante. $S(K)$ beschreibt im wesentlichen die Wahrscheinlichkeitsdichte, mit der ein Teilchen in der Entfernung r von einem anderen Teilchen gefunden werden kann.

Damit gilt: $\langle I_s(K) \rangle = I_0 - (I_{\text{Absorp}} + I_M)$, wobei I_{Absorp} die Lichtmenge die absorbiert worden ist und I_M die Lichtmenge, die durch Streuung nicht auf den Detektor fällt, angibt. I_m kann jedoch durch geeignete Wahl des Detektors klein gemacht werden.

Somit kann die Streuung durch die Funktion f ermittelt und damit das Spektrum bei bekannter Konzentration korri-

giert werden. Jedoch gilt dies nur für homogen verteilte Substanzen und Einkomponentengemische. In der **Abb. 3** sind zwei Funktionen mit gleichem Streuanteil aber mit unterschiedlicher Konzentration dargestellt. Da die Streuung konstant ist, existiert eine lineare Funktion g , die die Funktion f in Abhängigkeit von der Konzentration aber bei konstanter Streuung in die Funktion f' überführt. In der **Abb. 4** ist dieser Sachverhalt noch einmal dargestellt. Die Gerade stellt die Abbildung $g: E(4\text{mgHb} + \text{Streu1}) \rightarrow E(2\text{mgHb} + \text{Streu1})$ dar. Die Kurve stellt die Abbildung $f: E(4\text{mgHb} + \text{Streu1}) \rightarrow E(4\text{mgHb} + 2 \cdot \text{Streu1})$ dar, die eine nicht-lineare Funktion ist. Somit ergibt sich, dass die Streuung durch eine nicht-lineare Funktion gemessen werden kann.

Mit Hilfe der nicht linearen Funktion f' kann somit jedes Spektrum hinsichtlich der Streuung korrigiert werden. Jedoch gilt dies nur für homogen verteilte Substanzen und Einkomponentengemische.

Aus der **Abb. 4** kann der Rechenalgorithmus entnommen werden: Der Winkel der linearen Funktion g zur x -Achse bestimmt die Konzentrationsdifferenz der bekannten Urbildfunktion zum gemessenen Spektrum. Beträgt der Winkel 45° sind beide Konzentrationen gleich groß. Ist die Funktion f noch nicht-linear, muß die Urbildfunktion solange approximiert werden, bis die Funktion f in die lineare Funktion g übergeht. Dann ist die Streuung korrigiert und die Konzentration bekannt.

Jedoch gibt es in der In-vivo-Spektroskopie Nicht-Linearitäten, die dem Spektrum additiv überlagert sind. Dazu zählen die Nicht-Linearitäten, die durch die inhomogene Verteilung der Substanzen erzeugt werden. In der **Abb. 5** ist eine solche Nicht-Linearität durch inhomogene Farbstoffverteilung dargestellt. Hierbei handelt es sich um ähnliche Nicht-Linearitäten wie diejenigen, die durch Streuung verursacht worden sind.

Um die Nicht-Linearitäten zu trennen, die von unterschiedlichen physikalischen Gegebenheiten erzeugt worden sind, wird eine Streuscheibe bekannter Streuung benötigt. Wird nun das Gewebe einmal mit und einmal ohne Streuscheibe gemessen, addieren sich bei der Messung mit der Streuscheibe alleine die Nicht-Linearitäten, die durch Streuung hervorgerufen worden sind.

In der **Abb. 6** ist eine Nicht-Linearität dargestellt, die durch eine Hautmessung bestimmt worden ist. Wie man sieht, handelt es sich hierbei um stückweise nicht-lineare Abbildungen. Die Darstellung insgesamt stellt aber keine Funktion dar.

Um die Nicht-Linearitäten bestimmen zu können, wird auf die Nicht-Lineare-Dynamik zurückgegriffen. Die Nicht-Linearitäten aus der **Abb. 6** können wie folgt bestimmt werden: Zunächst bestimmt man eine Überdeckung der Nicht-Linearität mit Teilmengen des \mathbb{R}^n , in diesem Fall mit Kugeln des Durchmesser δ . Es wird die Zahl N der Objekte bestimmt, die zur Überdeckung notwendig sind. Dieses Verfahren wird auf kleiner werdende δ angewendet. Eine Approximation der fraktalen Dimension der Nicht-Linearität ist die Steigung der Geraden für die unterschiedlichen Werte $\log(N)$ und $\log(\delta)$. Diese fraktale Dimension D beschreibt nun eindeutig die Nicht-Linearität. Aus der zweiten Messung mit der Streuscheibe, kann nun die Änderung der fraktalen Dimension D durch die bekannte Streuung S' der Streuscheibe ermittelt werden. Diese Änderung hängt aber wie oben dargestellt, alleine von der vorhandenen Nicht-Linearität des Streuverhaltens der Probe ab. Damit ist die Streuung der Probe bestimmt.

Patentansprüche

1. Spektroskopisches Verfahren zur Bestimmung der Konzentration eines in einem streuenden Medium verteilten Stoffs, **gekennzeichnet durch:**

- gerichtetes Bestrahlen des Mediums mit Licht mit einem kontinuierlichen Spektrum,
- Aufnehmen des in einer bestimmten Richtung von dem Medium, remittierten Lichts,
- Ermitteln der Remission des remittierten Lichts als Funktion der Wellenlänge unter Inbezugsetzen zu einem Standard, z. B. Magnesiumoxid,
- Einbringen eines absorptionsfreien definierten Streumediums, insbesondere einer Streuscheibe, in den Lichtweg,
- Aufnehmen des in der bestimmten Richtung von dem Medium und dem eingebrachten Streumedium remittierten Lichts,
- Ermitteln der Remission des von dem Medium und dem eingebrachten Streumedium remittierten Lichts unter Inbezugsetzen zu dem Standard,
- Abbilden der ohne Streumedium ermittelten Remission auf die mit dem Streumedium ermittelten Remission,
- Bestimmen der fraktalen Dimension der Abbildung, und
- Ermitteln der Konzentration der Substanz aus der bestimmten fraktalen Dimension.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Abbilden der ohne das Streumedium ermittelten Remission auf die mit dem Streumedium ermittelten Remission nach der Theorie von Kubelka/Munk erfolgt.

Hierzu 6 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

Oxygeniertes Hämoglobin mit unterschiedlich streuenden Zusatzstoffen

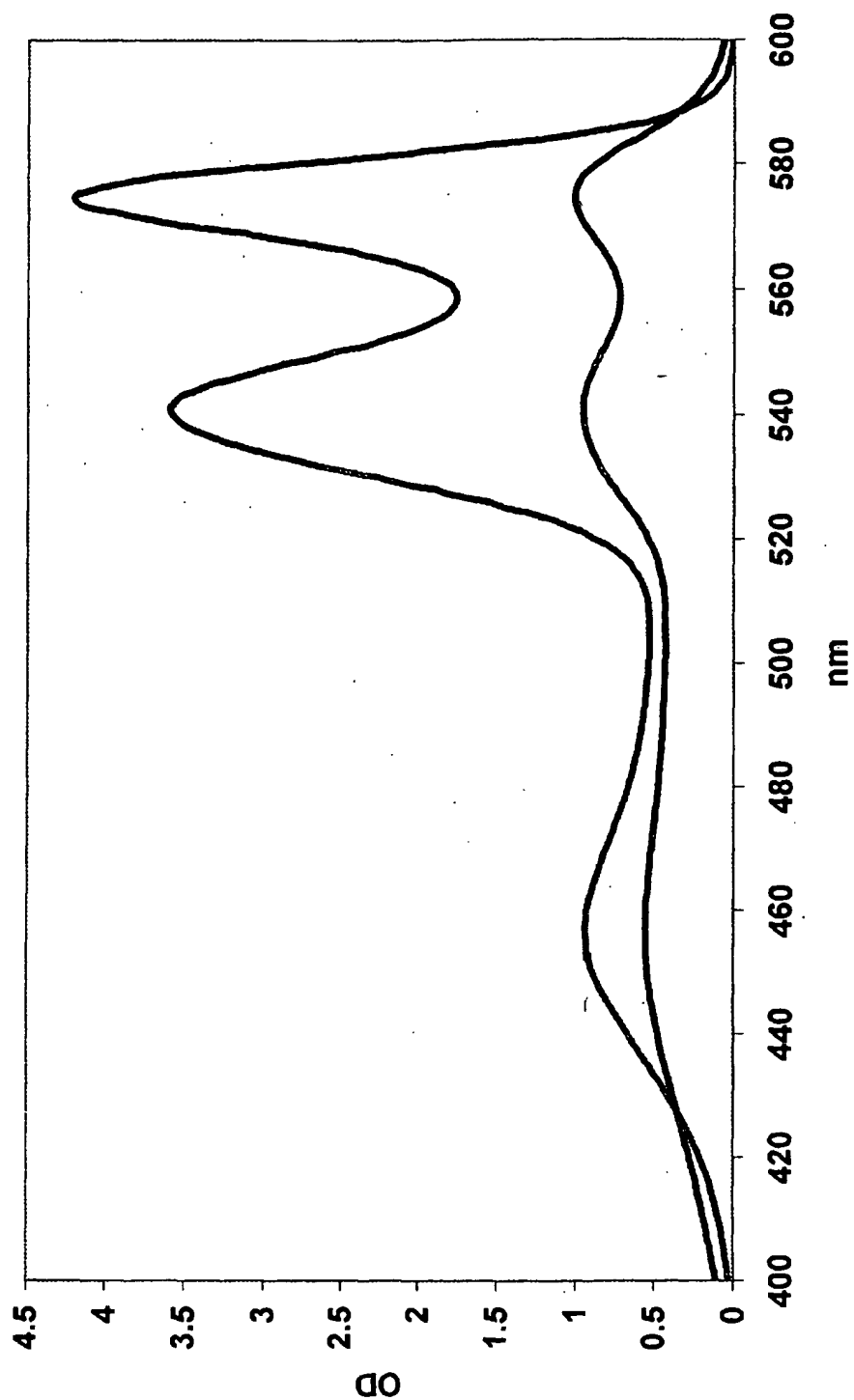


Abbildung 1

Funktion: $E(\text{Hb} + \text{Streu})(\lambda) \rightarrow E(\text{Hb})(\lambda)$

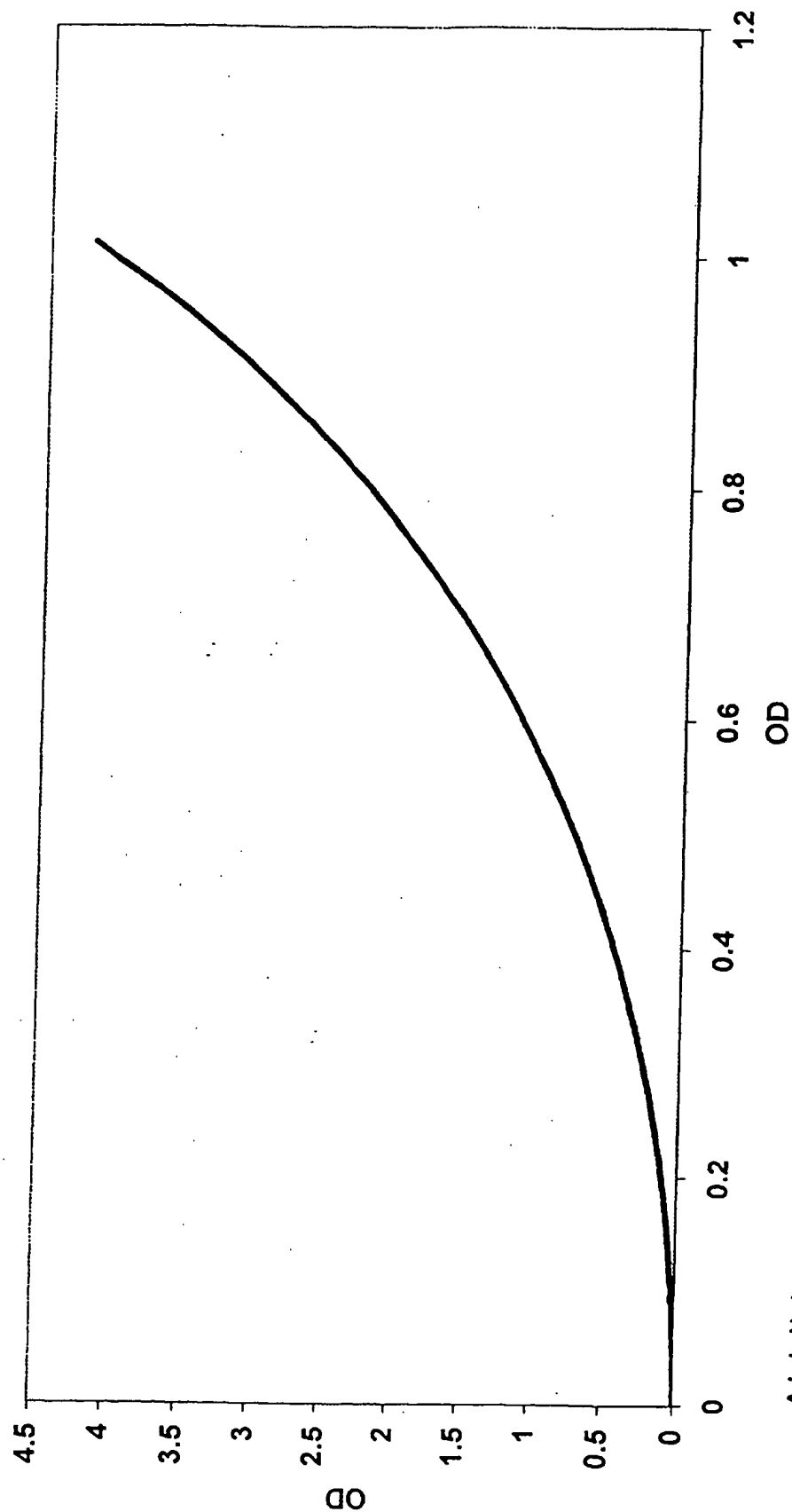


Abbildung 2

Funktion: $E(\text{Hb} + \text{Streu})(\lambda) \rightarrow E(\text{Hb})(\lambda)$

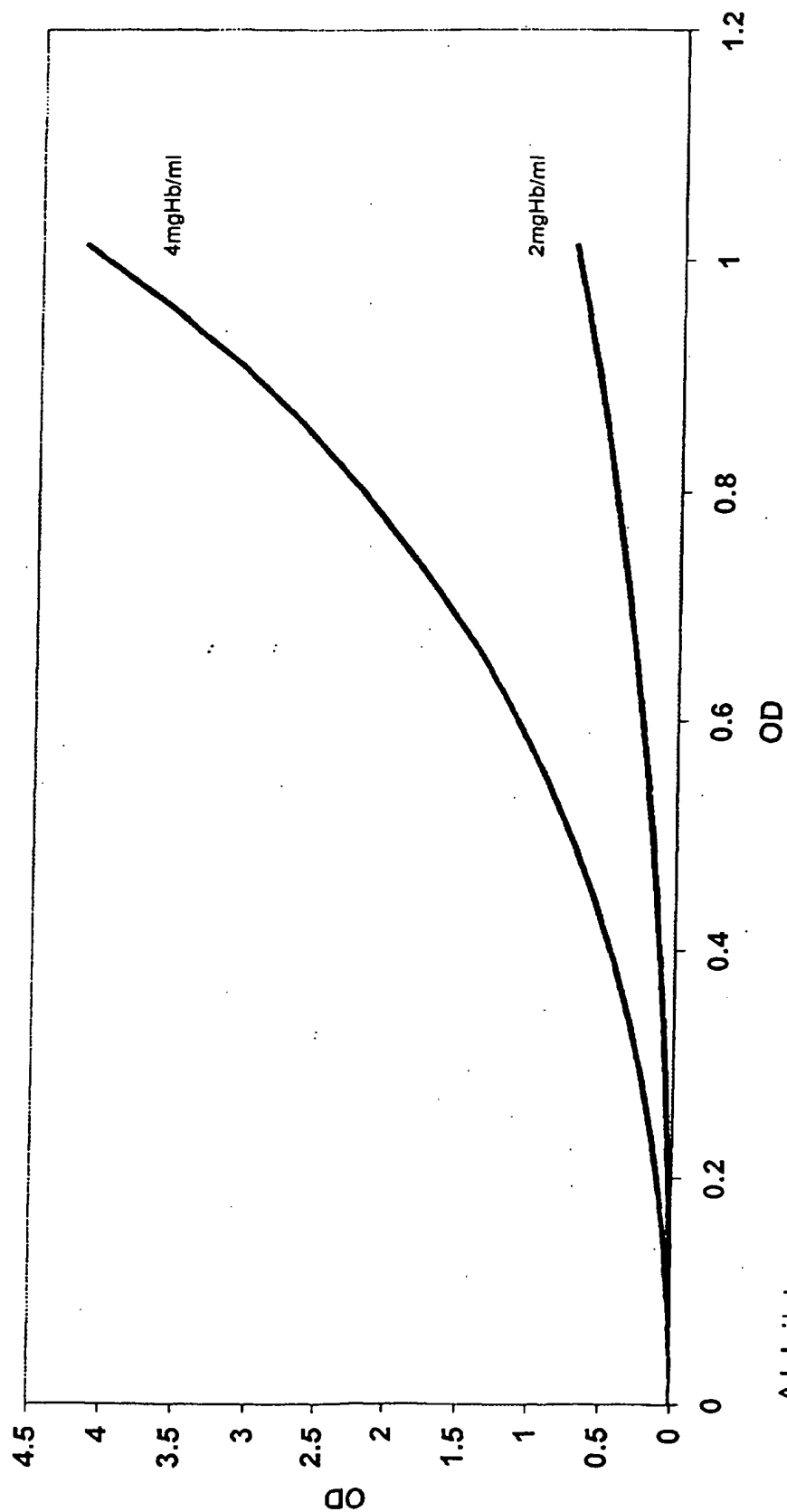


Abbildung 3

Funktionen zweier unterschiedlicher Streuungen

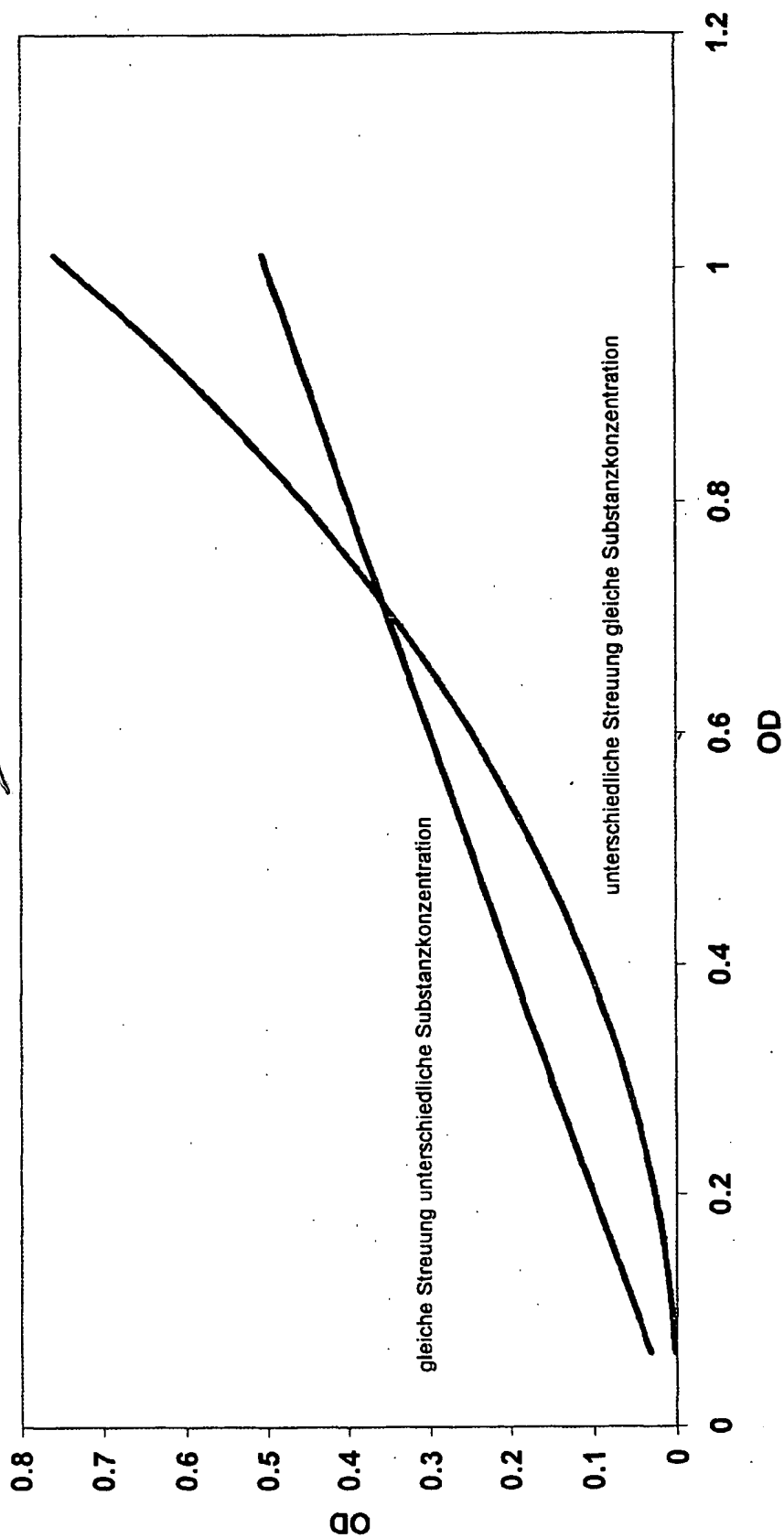


Abbildung 4

Inhomogene Hb-Verteilung (60% Hb, 40% konstant)

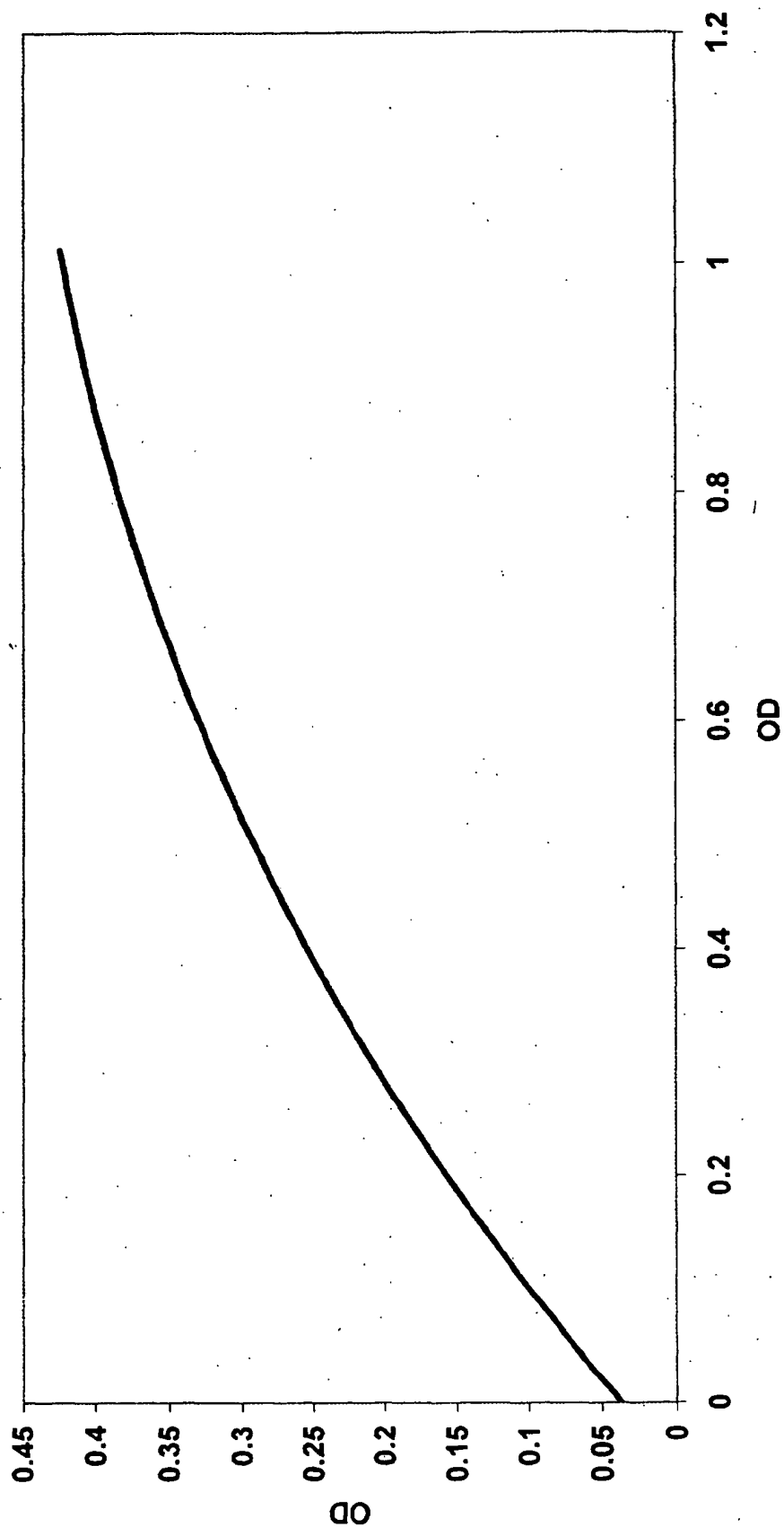


Abbildung 5

f: (Ext:Substanz a) ->(Ext: Substanz c)

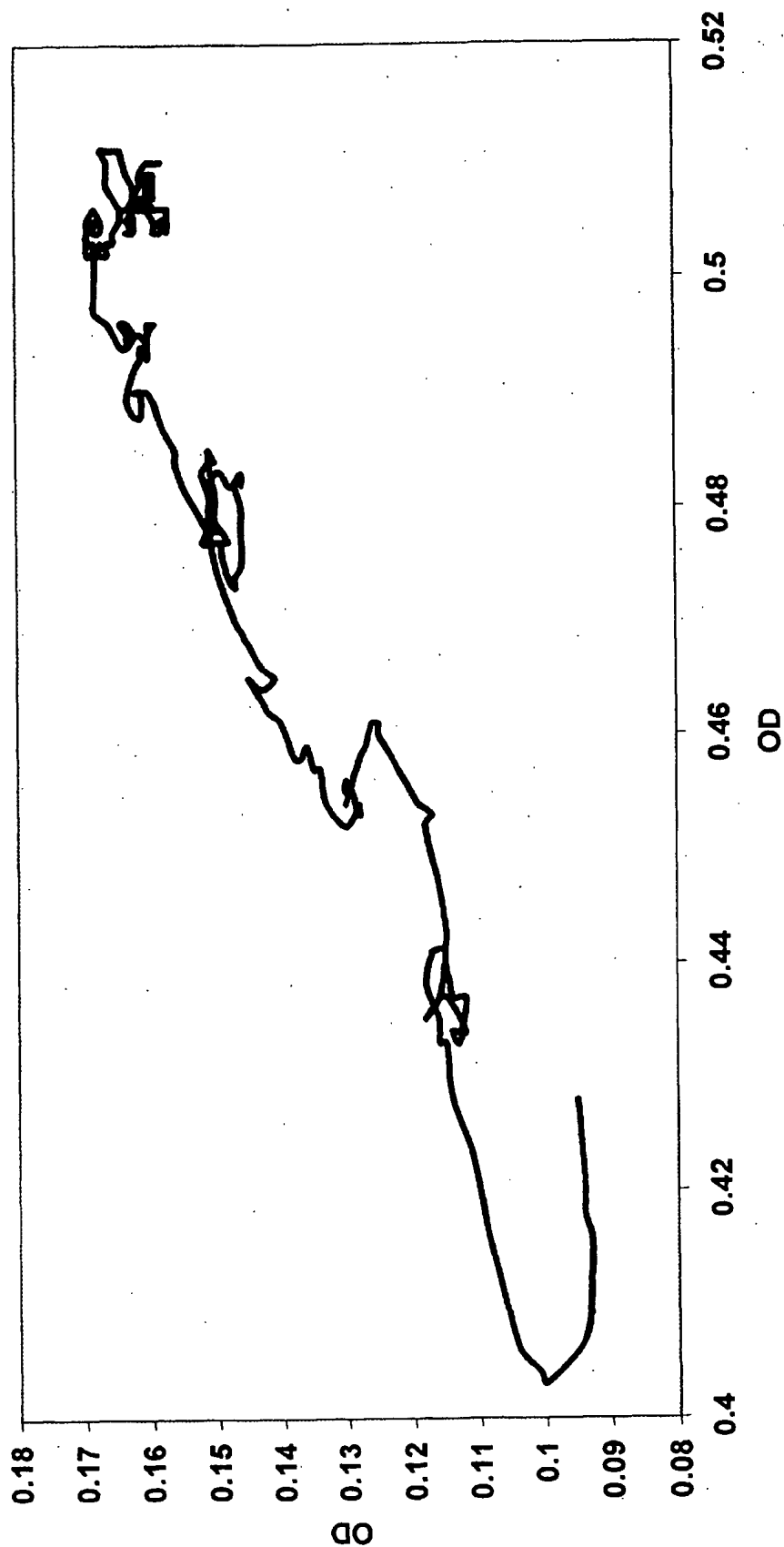


Abbildung 6



19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

12 **Offenlegungsschrift**
10 **DE 198 41 217 A 1**

21 Aktenzeichen: 198 41 217.7
22 Anmeldetag: 9. 9. 98
43 Offenlegungstag: 29. 4. 99

51 Int. Cl.⁶:
G 01 N 21/35
G 01 N 21/55
G 01 J 3/42
A 61 B 6/00
A 61 B 5/14

DE 198 41 217 A 1

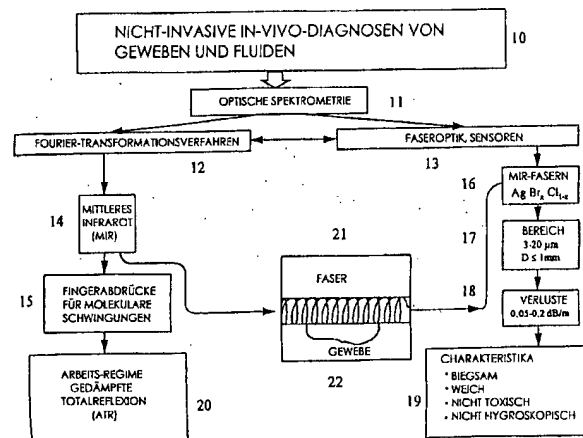
30 Unionspriorität:
063054 27. 10. 97 US
71 Anmelder:
Aspect Corp., Reno, Nev., US
74 Vertreter:
WUESTHOFF & WUESTHOFF Patent- und
Rechtsanwälte, 81541 München

72 Erfinder:
Bruch, Reinhard F., Dr., Reno, Nev., US;
Afanassieva, Natalia I., Dr., Reno, Nev., US

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

54 Gerät und Verfahren zur spektroskopischen Analyse von menschlichem oder tierischem Gewebe oder Körperflüiden

57 Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf Vorrichtungen, die eine faseroptische Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie mit abklingender Welle (FEW-FTIR) unter Verwendung faseroptischer Sensoren verwenden, die in den Betriebsbedingungen einer gedämpften Totalreflexion (ATR) im mittleren Infrarotbereich (MIR) des Spektrums (850 bis 4000 cm⁻¹) betrieben werden. Das beanspruchte Gerät wird zur Diagnose und Charakterisierung nicht invasiver und schneller (Sekunden) direkter Messungen von Spektren (in Echtzeit) von normalem und pathologischem Gewebe in vivo, ex vivo und in vitro verwendet. Das Ziel unserer Erfindung ist das Testen und Überwachen von normaler Haut und verschiedener Hauttumorgewebe in den frühen Stadien ihrer Entwicklung. Ferner ist das Gerät zur Fluiddiagnose sowie auch für endoskopische und Biopsieanwendungen geeignet. Genauer gesagt kann die Ferndiagnose normaler Haut und eines malignen Gewebes auf der Hautoberfläche (direkt auf einem Patienten) zwischen normaler und maligner Haut unterscheiden. Das Gerät kann außerdem für verschiedene Arten klinischer Diagnosen verwendet werden. Die Erfindung bezieht sich schließlich auf Diagnosen einer Umweltschädigung von Hautgewebe und Akupunkturpunkte und eine Behandlung von Hautgewebe auf einer molekularen Ebene.



DE 198 41 217 A 1

Beschreibung

Verfahren zum Überwachen mittels Infrarotspektroskopie mit Fourier-Transformation (FTIR) wurden z. B. im US-Patent Nr. 5 070 243 von Bornstein et al. und US-Patent Nr. 5 436 454 von Bornstein und Lowry diskutiert. Im US-Patent Nr. 5 070 243 beanspruchen Bornstein et al. nicht-plattierte optische Wellenleiter als Sonden für ein Fluidmedium, um die Empfindlichkeit spektroskopischer Messungen durch das ATR-Verfahren zu erhöhen. Die beanspruchten Sensoren und Wellenleiter sind jedoch nicht für In-vivo-Gewebsdiagnosen geeignet. In dem US-Patent Nr. 5 436 454 (1995) beschreiben Bornstein und Lowry eine andere optische Sonde für Fernmessungen mit gedämpftem Totalreflexionsvermögen einer Flüssigkeit, eines Gases oder relativ fester Materialien. Ihre Fasersonden sind ziemlich steif und durch ein Wellenleiterelement in Form einer Schleife gekennzeichnet. Außerdem wird für das Fasermaterial Chalcogenglas verwendet. Diese vorgeschlagenen Sonden sind für ungiftige bzw. nicht toxische nicht invasive In-vivo-Diagnosen von Gewebe nicht sehr brauchbar. Ferner können das zur Materialablichtung verwendete Epoxyd und das Chalcogenglas als Fasersonde toxisch und daher für In-vivo-Diagnosen von Gewebe ungeeignet sein. Stevenson et al. beanspruchen im US-Patent Nr. 5 585 634 (1996) ein Abfühlen eines gedämpften Totalreflexionsvermögens mit U-förmigen Sonden, die aus optischen Fasern bzw. Glasfasern mit einem Kernmantel bestehen, wo nur der U-förmige Sensoroberflächenteil nicht plattiert bzw. nicht ummantelt ist. Diese Vorrichtung ist durch die Auswahl eines Fasermaterials (Chalcogenglas) und die komplizierte Form der Fasersonde beschränkt und erfordert eine ausgedehnte Erfassungs- bzw. Abführzeit. Außerdem beansprucht Stevenson keine In-vivo-Anwendungen an Gewebe.

Das US-Patent 5 569 923 von Weissman et al. offenbart eine Glasfasersonde bzw. faseroptische Sonde mit Reflexionsvermögen (engl. fibre optic reflectance probe) für die FTIR- und ATR-Betriebsbedingungen. Die Sonde ist aus Chalcogenglas hergestellt und wurde nicht für die In-vivo-Gewebsdiagnosen optimiert. Vorrichtungen und Verfahren für optische und spektroskopische Verfahren für Gewebsdiagnosen oder eine Analyse biologischer Stoffe sind in den US-Patenten 5 280 788 und 5 349 954 beschrieben. Die Erfindung von James et al., US-Patent 5 280 788, bezieht sich insbesondere auf eine optische Spektroskopie bei der Diagnose eines Gewebes, wo eine Nadelsonde mit der Geweboberfläche in engem Kontakt steht. Dieses Verfahren verwendet jedoch als Lichtquelle Farbstofflaser und ist daher für klinische Anwendungen nicht sehr praktisch. Das US-Patent 5 349 954 von Tiemann et al. schlägt ein Instrument zum Kennzeichnen bzw. Charakterisieren eines Tumorgewebes, speziell eines mammographisch abnormen Gewebes, mit einer Breitbandlichtquelle und einem Monochromator vor. Dieses Krebsdiagnoseverfahren verwendet eine hohle Nadel, einen faseroptischen Beleuchter für eine Brustgewebsuntersuchung. Dieses Gerät kann nur Verschiebungen in der Hämoglobinoxxygenation analysieren. Im US-Patent 5 419 321 schlägt Evans einen nicht invasiven medizinischen Sensor für lebendes Gewebe vor, wie z. B. Hautgewebe oder Organe, wo der nicht invasive Überwachungsprozeß nicht ausführlich spezifiziert ist.

Dieses Patent beruht auf der nicht invasiven Bestimmung einer Konzentration einer analysierten Substanz in den Körpern von Säugetieren, insbesondere der Konzentration von Glukose im Blut. Stoddart und Lewis offenbaren im US-Patent Nr. 5 349 961 eine Vorgehensweise und ein Gerät für die klinische Auswertung einer biologischen Substanz auf einer nicht intrusiven In-vivo-Basis bezogen auf eine interne Ge-

webscharakterisierung einer Hautpigmentierung. Die Untersuchung und/oder Analyse von Gewebe und/oder biologischen Stoffen wird durch optische Spektrometrie im sichtbaren und nahen Infrarotbereich durchgeführt, die keine molekulare Schwingungsbandinformation liefert.

Diese Erfindung befaßt sich mit einer neuen-Kombination einer Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie (FTIR) und der Lichtwellenleiter- bzw. Glasfasertechnologie im mittleren Infrarotbereich von etwa 3 bis 20 Mikrometer. Diese Erfindung bezieht sich ferner auf die In-vivo-Diagnosen normaler und pathologischer Gewebe. Insbesondere werden nicht toxische, chemisch träge, nicht hygroskopische, intrinsisch sichere, biegsame Glasfasersonden mit geringem Verlust für nicht invasive oder minimal invasive, schnelle, direkte Messungen und Fernmessungen von Infrarotspektren von Gewebe in vivo verwendet.

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein neues kompliziertes spektroskopisches Gerät und Anwendungen, die Glasfasersonden im mittleren Infrarot für nicht invasive In-vivo-Diagnosen von normalem, präkanzerösem und kanzerösem menschlichem Gewebe sowie auch anderen biologischen Geweben und/oder Fluiden auf einer molekularen Ebene verwenden.

Die vorliegende Erfindung klärt neue Trends und Vorrichtungen für nicht invasive In-vivo-Diagnosen biologischer Gewebe auf, wo fortgeschrittenere Technologien kombiniert werden, einschließlich faseroptische Instrumente zur Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie mit abklingender Welle (FEW-FTIR), die Lichtwellenleiter bzw. Fasern mit extrem niedrigem Verlust mit verschiedenen Konfigurationen faseroptischer Sonden und Sensoren verwenden, die im ATR-Regime bzw. in den ATR-Betriebsbedingungen im Wellenlängenbereich des mittleren Infrarot (MIR) (800 bis 400 cm^{-1}) betrieben werden. Dieses Gerät hat insbesondere die folgenden einzigartigen Eigenschaften: eine zerstörungsfreie, nicht invasive, nicht toxische, chemisch träge, intrinsisch sichere, nicht hygroskopische, schnelle (Sekunden), direkte, entfernte, Echtzeit-, In-vivo-, Ex-vivo- und In-vitro-Gewebsdiagnose. Diese Techniken sind einfach und durch eine kostengünstige Wartung gekennzeichnet und daher für jede kommerzielle Anwendung eines FEW-FTIR-Spektrometers einschließlich klinischer Anwendungen geeignet.

Das Potential des Geräts dieser Erfindung ist insbesondere zum Charakterisieren von normalem und pathologischem Gewebe des menschlichen oder tierischen Körpers enorm (siehe Fig. 1 und 2). Diese Kombination von Glasfasersensoren bzw. faseroptischen Sensoren und FT-Spektrometern kann daher für viele Felder verwendet werden: (i) nicht invasive medizinische In-vivo-Diagnosen von Krebs und anderen Krankheitszuständen, (ii) Überwachen biochemischer Prozesse, (iii) Oberflächendiagnosen zahlreicher Stoffe, (iv) minimal invasive Volumendiagnosen von Geweben und Stoffen, (v) Charakterisierung der Qualität von Lebensmitteln, pharmakologischen Produkten und Kosmetika, (vi) Charakterisierung und Behandlung des Alterns der Haut etc.

Diese Erfindung befaßt sich mit (nicht-plattierten) Fasern mit nacktem Kern, die in verschiedenen Konfigurationen von Sonden in den ATR-Betriebsbedingungen einer FTIR-Spektroskopie zum spektroskopischen Überwachen und für Diagnosen in Echtzeit eines Hautgewebes in vivo, ex vivo und in Schnittwunden verwendet werden (siehe Fig. 6). Die Erfindung schließt auch eine nicht toxische, minimal invasive, entfernte, schnelle und Ex-vivo-Charakterisierung eines normalen und abnormen Gewebes von Brust, Bauch, Lunge, Prostata, Niere und anderen Körperteilen während eines operativen Eingriffs ein, was einen alternativen ersten

Schritt einer spektralen histopathologischen Untersuchung und Charakterisierung des Krankheitszustands erlaubt. Dieses Verfahren kann einen weiteren Zweig klinischer Diagnosen öffnen, der sich mit einer minimal invasiven, schnellen Ferndiagnose für endoskopische und Katheteranwendungen sowie auch für die Nadel-Anwendungen befaßt. Unter Verwendung dieser Verfahren wird auch eine hohe Empfindlichkeit auf die Zusammensetzung von Körperflüiden erreicht, wie z. B. Blut, Speichel, Urin, Lymph- und Drüsen-systemen.

Diese Erfindung bezieht sich in erster Linie auf In-vivo-Diagnosen eines normalen und pathologischen menschlichen Hautgewebes, wo die Sensorsonde direkten Kontakt mit dem Hautgewebe des Patienten hat. Als ein Beispiel dieses Ansatzes können wir gesundes, tumoröses, präkarzeröses und karzeröses Gewebe der Haut auf molekularer Ebene in speziellen IR-Spektralbereichen (Fingerabdruck-bereichen) unterscheiden und diagnostizieren.

Die Erfindung liefert ein mächtiges Instrument, um funktionale molekulare Gruppen nachzuweisen, um komplexe Strukturen innerhalb eines Gewebes aufzuklären, um gesundes, tumoröses, präkarzeröses und karzeröses Gewebe in einem frühen Entwicklungsstadium zu charakterisieren, zu unterscheiden und zu diagnostizieren. Insbesondere liefert die Erfindung aus den erhaltenen FTIR-Gewebespektren eine wichtige Information, wie z. B. den Absorptionsgrad, gemessen als eine Spitzenposition, eine Spitzenhöhe, ein Spitzenhöhenverhältnis, eine Spitzenfläche oder ein Spitzen-flächenverhältnis.

In einem weiten Sinne richtet sich die Erfindung auch auf ein neues Gerät mit mehreren faseroptischen Sonden und Zubehörteilen zum Erhalten von Reaktions- bzw. Antwortdaten durch Untersuchungen eines biologischen Gewebes unter dem Einfluß der Umgebung, z. B. sonneninduziertes Altern der menschlichen Haut, oder zur Behandlung für alternde Haut und für Diagnosen von Akupunkturpunkten und normalen menschlichen Hautzonen.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine nicht invasive In-vivo-Gewebsdiagnose unter Verwendung einer Kombination eines FTIR-Spektroskopiegeräts mit faseroptischen Verfahren. Gemäß der vorliegenden Erfindung werden nicht-plattierte Glasfasern und Fasersonden im Regime bzw. in den Betriebsbedingungen von ATR für lebendes Gewebe von Tieren und Menschen verwendet. Ein Strahl infraroter Strahlung (vorzugsweise mittlere Infrarotstrahlung) wird durch eine Glasfaser mit geringem Verlust geleitet und wechselwirkt mit dem Gewebe über den ATR-Effekt. In diesem Prozeß ist das absorbierende Gewebe in direktem Kontakt mit der reflektierenden Faser angeordnet. Die Wechselwirkungslänge der Gewebeoberfläche mit einer zylindrischen biegsamen Faser sonde variiert von etwa 1 bis 10 mm. Die Eindringtiefe des Infrarotlichts in lebendem Gewebe liegt in der Größenordnung der verwendeten Wellenlänge. Silberhalogenidfasern sind durch einen Brechungsindex n_1 von ungefähr von 2,2 gekennzeichnet, wohingegen lebendes Gewebe einen Brechungsindex nahe Wasser mit $n_2 = 1,3$ aufweist. Deshalb ist die ATR-Bedingung $n_1 > n_2$ erfüllt, und die mehrfach reflektierte Welle kann durch ein FT-Spektrometer nachgewiesen und analysiert werden. Im Fall sehr kleiner Biopsieproben kann die biegsame Faser sonde unter bestimmten Winkeln gebogen werden. Außerdem können Infrarot-Nadelsonden der vorliegenden Erfindung für Fluid- und Gewebdiagnosen, insbesondere für minimal invasive Biopsieverfahren, verwendet werden. Diese Erfindung schließt überdies kompakte faseroptische Sonden für endoskopische und/oder Katheteranwendungen ein. Zum Beispiel sind die Nadelsonden auch für Untersuchungen von Brustkrebs und Prostatakrebs geeignet. Diese Betriebsbe-

dingungen minimal invasiver Biopsien haben außerdem ein großes Potential für eine Körperfluidanalyse.

Die Glasfaserelemente für ATR-Sonden sind gewöhnlich polykristalline $\text{AgBr}_x\text{Cl}_{1-x}$ -Fasern (wo $x = 0$ bis 1) mit einem Durchmesser von typischerweise 1 mm. Sie arbeiten im Spektralbereich 3 bis 20 μm mit geringen optischen Verlusten, typischerweise 0,1 bis 0,5 dB/m bei 10 μm . Eine bevorzugte Faser sonde ist je nach der Konzentration von Brom und Chlor, der Struktur, der Reinheit der Zusammensetzung und dem Herstellverfahren durch eine hohe Biegsamkeit gekennzeichnet ($R_{\text{Biegen}} > 10$ bis 100 Faserdurchmesser). Diese Arten von Infrarotfasern sind weich, nicht toxisch und nicht hygroskopisch. Das optische System besteht aus den Glasfasern bzw. optischen Fasern, um die Infrarotstrahlung ein- und auszuleiten, und fokussierenden sphärischen Spiegeln oder Linsen, um einen Infrarotstrahl in die Faser zu fokussieren und Licht von der Faser auf einem gekühlten Detektor (vorzugsweise einem stickstoffgeköhlten MCT-Detektor) zu sammeln. Der optische Aufbau der Erfindung ist speziell konstruiert und mit jedem handelsüblichen FT-Spektrometer verwendbar.

Die faseroptischen Fourier-Transformations-Spektren mit abklingender Welle (FEW-FTIR), die in vivo gemessen werden, ermöglichen dem Benutzer, spezielle Spektralbereiche auszuwählen, wo fundamentale Änderungen in den Protein-, Lipid-, Phosphat- und Zuckersystemen sowie auch Wasserstoffbindungen auftreten. Solche FEW-FTIR-Spektren zeigen eine wichtige Information über "Ordnung-Unordnung"-Phänomene in lebendem Gewebe und daher den Krankheitszustand auf.

Eine bevorzugte Ausführungsform beinhaltet faseroptische ATR-Sonden für schnelle, entfernte (bis zu 3 m), nicht invasive und nicht toxische In-vivo- und Ex-vivo-Diagnosen von Hautkrebs während eines operativen Eingriffs und nach Schnitten.

Eine andere bevorzugte Ausführungsform ist die Messung und In-vivo-Charakterisierung des Krankheitszustands von menschlichem Hautgewebe im Spektralbereich von 800 bis 3700 cm^{-1} . Genauer gesagt wird die spektrale Variation von normalem zu pathologischem Gewebe in den Bereichen von 800 bis 1500, 1500–1800, 2700–3100 und 3100–3700 cm^{-1} angezeigt. Die Gruppe von Bändern zwischen 800 und 1500 rührt hauptsächlich von molekularen Schwingungen von Zuckern, Phosphatgruppen und Amid III her. Die im Wellenzahlbereich von 1500 bis 1800 cm^{-1} erhaltenen Spektren stammen von Amid I, Amid II und zwei aufgelösten Karbonylbändern. Der Bereich von 2700 bis 3100 cm^{-1} wird durch CH-symmetrische und -asymmetrische Streck-schwingungen (engl. stretching vibrations) dominiert. Bänder, die von Amid A (O-H und N-H-Schwingungen) stammen, treten im Spektralbereich von 3100 bis 3700 cm^{-1} auf (Anthony R. Rees und Michael J.E. Steinberg, From Cells to Atoms, Blackwell Scientific Publications, Oxford (1994)).

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform ist die Analyse und Einrichtung zum Analysieren der ausgeprägten Variation dieser spezifischen Bänder von normalem, präkarzerösem bis karzerösem Hautgewebe, die in vivo gemessen werden. Dieses Diagnosegerät ist insbesondere sehr empfindlich, um frühe Stadien von Hautkrebs und präkarzeröse Phänomene zu diagnostizieren. Gutartige bzw. benigne und nicht-benigne Tumore können durch das FTIR-Verfahren deutlich unterschieden werden. Dieser Typ von Hautdiagnosen ist für Oberflächenuntersuchungen ideal, weil die Eindringtiefe von IR-Licht je nach der Wellenlänge etwa 10 bis 20 μm beträgt. Das Gerät kann auch für mit dem Altern von Haut verbundene Änderungen von sowohl endogenem Altern als auch sonneninduziertem Altern (Lichtaltern oder

Dermatoheliosis) verwendet werden.

Eine andere bevorzugte Ausführungsform ist die Diagnose eines normalen Hautgewebes einschließlich der Oberflächenantwort auf verschiedene Akupunkturpunkte und Hautzonen des menschlichen Körpers. Dieses Gerät liefert im Vergleich zu traditionellen Akupunkturdiagnosen, wie z. B. Elektroakupunktur, ein selektiveres Verfahren auf einer molekularen Ebene.

Zusammengefaßt liefert das FEW-FTIR-Spektroskopieverfahren, das faseroptische Sensoren bzw. Glasfasersensoren verwendet, ein neues, effektives und schnelles Gerät zur Charakterisierung von normalem, karzerösem und sonst erkranktem Hautgewebe. Die Änderungen in Tumorspektren können in Echtzeit beobachtet und durch Computerprogramme zur Mustererkennung und neuronaler Netzwerke nach dem Stand der Technik analysiert werden. Das Gerät reagiert schließlich sehr empfindlich auf den Einfluß der Umgebung bei einer Schädigung des Hautgewebes. Ein weiterer Vorteil dieses Geräts sind mögliche Anwendungen auf etwaige umweltbezogene Gesundheitsprobleme.

Ein Ausführungsbeispiel eines Geräts und Verfahrens zur spektroskopischen Analyse von menschlichem oder tierischem Gewebe oder Körperfluiden gemäß der vorliegenden Erfindung wird im folgenden anhand der beigefügten Zeichnung ausführlich erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 eine schematische Veranschaulichung einer bevorzugten Ausführungsform des Diagnosegeräts der vorliegenden Erfindung;

Fig. 2 ein Blockdiagramm, das das Prinzip von Gewebediagnosen unter Verwendung der vorliegenden Erfindung zeigt;

Fig. 3a, b und c schematische Darstellungen verschiedener Fasersondenausführungsformen für mittleres Infrarot (MIR) der vorliegenden Erfindung;

Fig. 3d eine schematische Darstellung einer Endoskop- oder Katheterausführungsform der vorliegenden Erfindung;

Fig. 4 ein Fern-FEW-FTIR-Spektrum normaler Haut, das in vivo gemessen wird; die Meßzeit beträgt etwa 40 Sekunden;

Fig. 5a bis 5d typische In-vivo-FEW-FTIR-Spektren von normalem menschlichem Hautgewebe in der praktischen Umsetzung dieser Erfindung; die gestrichelten Linien repräsentieren Computerfits bzw. -anpassungen der beobachteten Hauptbandstrukturen; Lorentzprofile wurden als Anpassfunktionen verwendet; die Spektren stammen aus Fernmessungen;

Fig. 6a, b und c schematische Diagramme von Verfahren für eine Diagnose von normalem Gewebe und Krebsgewebe gemäß der Erfindung;

- a) in vivo
- b) ex vivo
- c) Schnittwunde (unter der Epidermis);

Fig. 7 mehrere In-vivo-FEW-FTIR-Spektren "normaler" menschlicher Haut nahe einem benignen Tumor, die durch das Gerät der vorliegenden Erfindung erzeugt wurden;

Fig. 8 mehrere In-vivo-FEW-FTIR-Spektren eines (nicht karzerösen) Pigmentmals in vivo mehrerer Patienten, die durch das Gerät der vorliegenden Erfindung erzeugt wurden;

Fig. 9a In-vivo-Messungen von FEW-FTIR-Spektren normaler (A) und maligner (B) Hautgewebe (prämelanomer Fall) im Bereich von 1480–1850 cm^{-1} ; die Spektren wurden unter Verwendung des Geräts der vorliegenden Erfindung aufgezeichnet;

Fig. 9b Ex-vivo-Messungen von FEW-FTIR-Spektren normaler (A) und maligner (B) Hautgewebe (prämelanomer

Fall) im Bereich von 1480–1850 cm^{-1} ; die Spektren wurden unter Verwendung des Geräts der vorliegenden Erfindung aufgezeichnet;

Fig. 10a In-vivo-Messungen von FEW-FTIR-Spektren normaler (A) und maligner (B) Hautgewebe (melanomer Fall) im Bereich von 1480–1850 cm^{-1} ; die Spektren wurden unter Verwendung des Geräts der vorliegenden Erfindung aufgezeichnet;

Fig. 10b Ex-vivo-Messungen von FEW-FTIR-Spektren normaler (A) und maligner (B) Hautgewebe (melanomer Fall) im Bereich von 1480–1850 cm^{-1} ; die Spektren wurden unter Verwendung des Geräts der vorliegenden Erfindung aufgezeichnet;

Fig. 11 In-vivo-Messungen von FEW-FTIR-Spektren normaler (A) und maligner (B) Hautgewebe (Basalzellenkarzinomfall) im Bereich von 1480–1850 cm^{-1} ; die Spektren wurden unter Verwendung des Geräts der vorliegenden Erfindung aufgezeichnet;

Fig. 12a In-vivo-Messungen von FEW-FTIR-Spektren normaler menschlicher Haut im Bereich von 850–1800 cm^{-1} für drei verschiedene Körperstellen, nämlich die linke Ellenbogenfalte (LU5), die Unterlippe und das linke Ohr; die Spektren wurden unter Verwendung des Geräts der vorliegenden Erfindung aufgezeichnet;

Fig. 12b eine In-vivo-Messung von FEW-FTIR-Spektren normaler menschlicher Haut im Bereich von 2450–4000 cm^{-1} für drei verschiedene Körperstellen, nämlich die linke Ellenbogenfalte (LU5), die Unterlippe und das linke Ohr; die Spektren wurden unter Verwendung des Geräts der vorliegenden Erfindung aufgezeichnet;

Fig. 13a In-vivo-Messungen von FEW-FTIR-Spektren normaler menschlicher Haut im Bereich von 850–1800 cm^{-1} für zwei Akupunkturpunkte des linken Handgelenks; die Spektren wurden unter Verwendung des Geräts der vorliegenden Erfindung aufgezeichnet;

Fig. 13b In-vivo-Messungen von FEW-FTIR-Spektren normaler menschlicher Haut im Bereich von 2450–4200 cm^{-1} für zwei Akupunkturpunkte des linken Handgelenks; die Spektren wurden unter Verwendung des Geräts der vorliegenden Erfindung aufgezeichnet;

Fig. 14a–e In-vivo-Messungen von FEW-FTIR-Spektren normaler menschlicher Haut im Bereich von 1500–1800 cm^{-1} für fünf verschiedene Akupunkturpunkte: a) Unterlippe, b) linkes Ohr, c) Ellenbogenfalte (LUS), d) linkes Handgelenk (8p) und e) unteres Handgelenk (9p); die Spektren wurden unter Verwendung des Geräts der vorliegenden Erfindung aufgezeichnet; und

Fig. 15a–e In-vivo-Messungen von FEW-FTIR-Spektren normaler menschlicher Haut im Bereich von 2800–3000 cm^{-1} für fünf verschiedene Akupunkturpunkte: a) Unterlippe, b) linkes Ohr, c) Ellenbogenfalte (LUS), d) linkes Handgelenk (8p) und e) unteres Handgelenk (9p); die Spektren wurden unter Verwendung des Geräts der vorliegenden Erfindung aufgezeichnet.

Bezugnehmend auf die schematische Darstellung von Fig. 1, die nicht invasive In-vivo-Diagnosen von Gewebe und Fluiden 10 veranschaulicht, ist dieses Gerät mit dem Gebiet optischer Spektroskopie 11 und insbesondere mit Fourier-Transformationsverfahren 12 in Kombination mit der Glasfasertechnik und Sensoren 13 verbunden. Gewebemessungen werden im mittleren Infrarot (MIR) 14 durchgeführt, und aufgezeichnete Spektren sind Fingerabdrücke für spezifische molekulare Schwingungen 15. Spezielle MIR-Fasern des Typs $\text{AgBr}_x\text{Cl}_{1-x}$ 16, die im Bereich 3–20 μm mit einem Durchmesser $D \leq 1 \text{ mm}$ 17 und extrem niedrigen Verlusten 18 betrieben werden, weisen einzigartige Eigenschaften, wie z. B. eine hohe Biegsamkeit und Weichheit, auf und sind nicht toxisch und nicht hygroskopisch 19. Die

nicht-plattierten MIR-Fasern 16 sind für die Betriebsbedingungen bzw. das Regime einer gedämpften Totalreflexion (ATR) 20 ausgelegt. Eine Fasersonde 21 steht in direktem Kontakt mit dem Gewebe 22.

Die allgemeine Natur und Verwendung des Geräts gemäß der Erfindung ist in Fig. 2 veranschaulicht. Der optische Aufbau besteht aus einem handelsüblichen FTIR-Spektrometer 23. Licht von einer IR-Quelle 24 geht durch einen Michelson-Interferometer-Aufbau 25 und wird z. B. durch eine externe Öffnung extrahiert und in eine nicht-plattierte optische Faser bzw. Glasfaser fokussiert. Der optische Aufbau dieser Erfindung besteht aus Glasfasern und einer Fasersonde 27, um die Infrarotstrahlung über fokussierende sphärische Spiegel oder Linsen 26, 29 ein- und auszuleiten. Gemäß der Erfindung steht die Sonde mit der nicht-plattierten Faser in direktem Kontakt mit der Gewebeprobe 28, wo die Kontaktlänge zwischen der Faser und dem Gewebe von einem bis einige Millimeter variiert. Gemäß dieser Erfindung hat die nicht-plattierte Faser ähnlich dem Prisma in der ATR-Sonde direkten Kontakt mit dem Gewebe.

An der Grenzfläche zwischen Gewebe und Faser dringt eine abklingende Welle über die Gewebeoberfläche in die Probe ein. Eine abklingende Welle ist durch ein sich nicht ausbreitendes Feld im optisch dichteren Medium gekennzeichnet, dessen elektrische Feldamplitude mit dem Abstand von der Oberfläche exponentiell abfällt. Das reflektierte Licht wird von der Grenzfläche zwischen Gewebe und Faser auf einem Detektor, vorzugsweise einen stickstoffgekühlten MCT-Detektor (Quecksilber, Kadmium, Tellur) 30, gesammelt. Nach einer Verstärkung wird das Signal in einem Mikroprozessor oder Computersystem 31 verarbeitet. Es wird ferner besonders erwähnt, daß ein größerer Kontakt zwischen Gewebe und Faser einem ausgeprägteren FTIR-Gewebespektrum entspricht. Je nach dem Signalzu-Rausch-Verhältnis kann eine optimale Zahl von Abtastungen für In-vivo-Gewebemessungen gewählt werden. Typische Aufzeichnungszeiten reichen ungefähr von 2 bis 40 Sekunden. Daher ist dieses Diagnoseverfahren für einen menschlichen Patienten und ein tierisches Untersuchungsobjekt sehr praktisch.

In Fig. 3a bis 3d sind schematische Darstellungen verschiedener Fasersonden in engem Kontakt mit dem Gewebe dargestellt. Eine Ausführungsform dieser Sonden ist, daß die Fasern, vorzugsweise Silberhalogenidfasern, in eine bestimmte Form und einen bestimmten Winkel gebogen werden können, wobei je nach der Größe der Gewebeproben verschiedene Spitzensonden erzeugt werden. Die Sonden dieser Erfindung können mit verschiedenen Krümmungsradien des Spitzenabschnitts genutzt werden. In Fig. 3a ist eine Spitzensonde 32 mit einer nicht-plattierten MIR-Faser gezeigt, die ein größeres Gewebeselement 33 bedeckt. Eine andere beispielhafte Nutzung der Spitzensonde ist in Fig. 3b angegeben. Die MIR-Faser 34 ist hier unter einem scharfen Winkel gebogen, wobei eine Spitzensonde zum Nachweis bzw. zur Untersuchung kleinerer Flächen eines Gewebes 35 geschaffen wird. Diese Sonde ist zur Untersuchung von normalen und malignen Geweben mit einer Größe in der Größenordnung von 1 mm oder weniger geeignet. Solch kleine Spitzensonden, typischerweise mit einem Durchmesser von 1 mm, können auch für Biopsien verwendet werden. Eine andere Ausführungsform der Sonde ist in Fig. 3c gezeigt, worin eine Nadelspitze 36 eine Gewebeoberfläche 37 berührt. Diese Sonde der vorliegenden Erfindung wird in minimal invasiven Diagnosen z. B. für Brustkrebs verwendet. Die gleiche Sonde kann auch in Messungen von Fluiden verwendet werden. Eine weitere Ausführungsform unserer Erfindung der Sonde 38, die das Gewebe 41 berührt, ist in Fig. 3d dargestellt, worin ein Endoskop oder Katheter 39

mit einem zusätzlichen Fernfaserkabel 40 veranschaulicht ist.

Dieser Sensortyp gemäß der Erfindung kann für Brust-, Nieren-, Magen-, Lungen- und Prostatakrebsdiagnosen verwendet werden. Die in Fig. 3a bis d gezeigten Fasersonden werden einfach gewechselt und im allgemeinen nur einmal verwendet. Für eine Fluiduntersuchung wird die Fasersonde innerhalb der subkutanen bzw. hypodermalen Nadel oder Spritze angeordnet. In dieser Erfindung werden austauschbare Spitzensonden für Biopsie- und endoskopische Anwendungen verwendet. Die spezielle Spitzengröße und -konfiguration erlauben die Sammlung oder Streuung von IR-Licht für verschiedene Arten von Gewebeuntersuchungen. In einer weiteren Darstellung (siehe Fig. 4) ist ein typisches Fern-FEW-FTIR-Spektrum normaler Haut in vivo im Bereich von etwa 500 bis 4500 cm^{-1} angezeigt. In diesem Spektrum ist der Absorptionsgrad gegen die Wellenzahl in cm^{-1} aufgetragen, und das Spektrum ist mit einer Auflösung von 4 cm^{-1} gemessen.

Fasern aus polykristallinem Silberhalogenid $\text{AgBr}_x\text{Cl}_{1-x}$ mit vorzugsweise einem Durchmesser von 1 mm, extrem niedrigen optischen Verlusten (0,1 bis 0,5 dB/m im Bereich von 10 μm) und einer hohen Biegsamkeit ($R_{\text{Biegen}} > 10$ bis 100 Faserdurchmesser) werden als Faserspitzensonden verwendet (Artushenko et al., US-Patent 5 309 543 und US-Patent 5 342 022 und Küpper und Butvina, Offenlegungsschrift DE 44 14 552 A1). Wie aus Fig. 4 ersichtlich ist, übertragen die Fasersonden IR-Strahlung mit geringen Verlusten im Bereich von etwa 800 bis 4000 cm^{-1} . Gemäß einem Gesichtspunkt der Erfindung ist daher die Qualität der erhaltenen IR-Spektren hoch, d. h. niedriger Hintergrund, ausgezeichnete Statistik und volle Kompensation im Bereich von Wasserdampf und CO_2 -Schwingungen.

Eine andere Ausführungsform der In-vivo-Diagnose menschlicher Haut bezieht sich auf verschiedene Fingerabdruckbereiche der IR-Spektren in den Wellenzahlbereichen 800 bis 1500 cm^{-1} , 1500 bis 1800 cm^{-1} , 2700 bis 3100 cm^{-1} und 3100 bis 3700 cm^{-1} . In der vorliegenden Erfindung kann das FEW-FTIR-Gerät für Gewebediagnosen in den obigen Bereichen spektraler Messungen unter Verwendung verschiedener Faserstoffe und Fasersonden auf die nahen Infrarot-(NIR) oder fernen Infrarotbereiche (FIR) ausgedehnt werden.

Die vorliegende Erfindung ist ferner in den In-vivo-FEW-FTIR-Spektralmerkmalen von normalem menschlichem Hautgewebe verkörpert, die in Fig. 5a bis 5d gezeigt sind. Fig. 5a gibt die signifikanten IR-Bänder von 42 bis 49 an, die mit Schwingungen in Systemen von Phosphatgruppen, Zuckern, Amid-III- und CH_2 -Verformungen verbunden sind. Gemäß der Erfindung gehören insbesondere die Spitzen 42 und 43 zu Schwingungen der C-O-C-Gruppen in Zuckern. Die Spitze 44 wird symmetrischen Streckmoden von Phosphatgruppen (PO_2^-) zugeschrieben. Die Spitze 45 stimmt ferner mit Streckschwingungen von C-O- und C-C-Bändern in Zuckersystemen überein. Die mit 46 bezeichnete Struktur stammt von einem asymmetrischen Strecken von Phosphatgruppen (PO_2^-) plus zugeordneten C-O-C-Bändern Sulfoglycolipiden, wohingegen die Spitze 47 von Amid-III-Bandkomponenten von Proteinen stammt. Die Spitze 48 dieser Erfindung ergibt sich infolge eines symmetrischen Streckens von Karboxylgruppen (COO^-), und die Spitze 49 entspricht schließlich dem Biegen von Methyl (CH_3). All diese Bandstrukturen können als Fingerabdrücke für Gewebediagnosen verwendet werden und stehen mit dieser Erfindung in Zusammenhang.

Wie in Fig. 5b ersichtlich ist, tragen vier Hauptbänder zum FEW-FTIR-Spektrum eines normalen Hautgewebes im Bereich der dominierenden Amidbänder bei. Die Spitze 51

ist somit mit einer Amid-II-Schwingung verbunden, und die Spitze 52 ergibt sich infolge Amid I mit einer schraubenförmigen Struktur für normale Haut. Außerdem sind zwei schwächere Bänder 53 und 54 C=O-aliphatischen bzw. C=O-zyklischen Gruppen zugeordnet. Gemäß der vorliegenden Erfindung zeigt Fig. 5c drei Hauptbandstrukturen 55, 56 und 57. Die Bänder 55 und 56 entsprechen einem symmetrischen und asymmetrischem Strecken einer Methylgruppe (CH₂) in Fettsäuresystemen, und die Schulter 57 des Bandes 56 liegt infolge eines asymmetrischen Streckens einer Methylgruppe (CH₃) vor. All diese Bänder spielen in Gewebsdiagnosen eine wichtige Rolle und sind daher eine Ausführungsform dieser Erfindung.

Eine andere Ausführungsform unserer Erfindung ist mit dem FEW-FTIR-Spektrum von normalem Hautgewebe im Bereich von etwa 3100 bis 3700 cm⁻¹ verbunden. Die mit 59 bezeichnete Bandstruktur mit der Schulter 58 gehört zu NH-Streckmoden im Amid-A-System von Proteinen, und das teilweise aufgelöste Band 60 rührt von einem OH-Strecken her. Der gleiche FTIR-FEW-Ansatz kann für Tumordiagnosen und die Charakterisierung des Krankheitszustands von Hautgewebe verwendet werden. Diese Erfindung bezieht sich deshalb auch auf Krebsdiagnosen in frühen und fortgeschrittenen Stadien. Fig. 6a, b und c stellen klinische Prozeduren zum In-vivo- und Ex-vivo-Analysieren eines Hautgewebematerials während eines operativen Eingriffs und in Schnitten (in vitro) dar.

Fig. 6a zeigt eine Sequenz von Messungen an menschlicher Haut 61 in vivo (direkt am Patienten), wo der Punkt 62 die Mitte eines Tumors oder von Krebs ist und die Punkte 63 und 64 Messungen entsprechen, die in Richtung normaler Haut vorgenommen werden. Der Abstand zwischen 62-63 und 62-64 hängt von der Größe und dem Wachstum des Tumorgewebes ab. Fig. 6b zeigt das Schema von Ex-vivo-Messungen an der Oberfläche von Hautgewebe 65 nach einem operativen Eingriff. Hier entsprechen 66, 67 und 68 den gleichen Stellen (62, 63 und 64), die in Fig. 6a angegeben sind. Fig. 6c zeigt außerdem einen charakteristischen Schnitt 69 bei der Mitte eines Tumor 70 und an entfernten Punkten 71 und 72, um verschiedene Schichten des Tumors und normaler Haut unter der Hautoberfläche zu messen. Solche Experimente können bequem in jedem chirurgischen Zentrum (Operationsraum) für Ex-vivo-Untersuchungen während eines operativen Eingriffs vorgenommen werden. Dieses Gerät findet Anwendung auf Brustkrebs und Tumorgewebe von Lunge, Niere, Prostata, Magen, Drüsen etc. für eine Online-, eine Fern-, eine schnelle und zerstörungsfreie Diagnose. Die Ergebnisse solcher Spektralmessungen können direkt mit der traditionellen und zeitaufwendigeren Analyse histologischer Daten verglichen werden. Dieses neue IR-Spektral-Histologieverfahren in vitro entspricht der vorliegenden Erfindung.

Fig. 7 demonstriert die Empfindlichkeit nicht invasiver In-vivo-FEW-FTIR-Messungen von Hautgewebe. Zum Beispiel zeigen FTIR-Spektren normaler Haut (A), entfernter Punkt (siehe Fig. 6a, Punkt 63), vier ausgeprägte bzw. deutliche Bänder im Bereich der Haupt-Amidschwingungen (siehe Fig. 5b). Im Gegensatz dazu zeigt das Spektrum eines zum Tumor nächstgelegenen bzw. nächsten Punktes (B) (siehe Fig. 6a, Punkt 64) nur drei ausgeprägte Bänder, wo die mit 53 bezeichnete Struktur (siehe Fig. 5b) reduziert ist und in der Kurve (B) nahezu verschwindet. Fig. 8 zeigt ferner typische FEW-FTIR-Spektren, die aus einem (nicht karzerösem) Pigmentmal für drei verschiedene Patienten (A, B, C) entstanden. Es ist klar, daß in zwei Fällen (A und B) die vier Bandpositionen 51 bis 54 zusammenfallen, im Fall C aber die Spitzenpositionen 51 und 52 verschoben sind, die von Amid I und Amid II herrühren. Dies ist eine klare An-

zeige eines frühen Stadiums von Krebs, das durch ein Gerät gemäß der vorliegenden Erfindung aufgedeckt wird.

Die Erfindung befaßt sich auch mit einer Einrichtung zum Vergleichen einer Bandstruktur, von Spitzenpositionen, Spitzenverhältnissen etc. einschließlich sichtbarer Anzeigen der zu vergleichenden Spektren. Alternativ dazu kann eine solche Einrichtung zum Vergleichen überlagert werden. Es ist auch möglich, ausgeklügeltere Einrichtungen zum Vergleichen vorzusehen, die Differenzen zwischen verschiedenen Spektren berechnen, wobei z. B. ein Spektrum von einem anderen subtrahiert wird, um die Differenzen zwischen den Spektren aufzuzeigen.

Demgemäß besteht eine weitere Aufgabe dieser Erfindung darin, eine Einrichtung für die In-vivo-Diagnose eines Prämelanoms zu schaffen, wie in Fig. 9a und b dargestellt ist. Vergleicht man normales (A) und prämelanomes (B) Gewebe (siehe Fig. 9a), finden wir, daß sich die vier Hauptbandstrukturen und die mittleren Spitzenpositionen nicht geändert haben, wohingegen die relativen Intensitäten beider Amid-Bänder abnehmen. Ein praktisches zuverlässiges Verfahren, das in dieser Erfindung zur Verfügung gestellt wird, zum Überwachen von Krebs und Präkarzerose ist die Bestimmung von Intensitätsverhältnissen für drei Bandpaare: $R_I(I_{52}/I_{51})$, $R_{II}(I_{52}/I_{54})$ und $R_{III}(I_{54}/I_{53})$. Insbesondere kann das Intensitätsverhältnis R_{II} für Krebs- und Präkarzerosedagnosen verwendet werden. In Fig. 9b ist ein Vergleich einer FEW-FTIR-Ex-vivo-Messung (Schnittwunde) für normales (A) und malignes (B) Hautgewebe (Prämelanom) im gleichen Bereich wie in Fig. 9a dargestellt. Aus dieser Figur ist ersichtlich, daß die beiden wasserstoffgebundenen Karbonylbänder 53 und 54 in Spektren einer Schnittwunde unter der obersten Schicht der Epidermis vollkommen verschwanden. Außerdem hat sich das Intensitätsverhältnis R_I wesentlich geändert, und die Spitzenpositionen der Bänder 51 und 52 haben sich in entgegengesetzte Richtungen verschoben.

Als ein weiteres Beispiel des vorhergehenden Diagnoseverfahrens zeigen wir in Fig. 10a und b einen extremen Fall eines Melanoms. Wie aus Fig. 10a ersichtlich ist, fehlen beide Karbonylbänder 53 und 54 für normale (A) und maligne (B) Hautoberflächenpunkte (siehe Fig. 6a). Überdies zeigen die Bandmaxima 51 und 52 charakteristische Verschiebungen. Daher können die Distanzen in der Bandposition zwischen 51 und 52 als ein weiterer Parameter für Krebsdiagnosen verwendet werden. Außerdem existiert gemäß dieser Erfindung eine ausgeprägte Differenz im Intensitätsverhältnis für R_I . Wie in Fig. 10b ersichtlich ist, treten im Vergleich zu Fig. 10a dramatische Änderungen in den FEW-FTIR-Spektren von einem normalen (A) und malignen (B) Hautgewebe (Melanom) unter der Epidermis (siehe Fig. 6c) im gleichen Bereich auf. Es wird ferner besonders erwähnt, daß die Spitze 51 zum Teil zusammengefallen ist. Ein schwacher Beitrag des Bandes 54 (Karbonylgruppe) wird jedoch ausschließlich für normales Gewebe beobachtet.

Mit dem Gerät dieser Erfindung wurden FEW-FTIR-Spektren von malignen Hautgeweben in vivo (Basalzellenkarzinom) gemessen, wie in Fig. 11 gezeigt ist. In dieser Figur sind Spektren für normale (A) und maligne (B) Hautoberflächen dargestellt. Merkbliche Unterschiede treten in Spitzenpositionen, Intensitäten, Intensitätsverhältnissen und der Form von Bandstrukturen auf. Ein Basalzellenkarzinom kann daher direkt von der Hautoberfläche durch Vergleichen der Kurve A und B nachgewiesen werden (siehe Fig. 11). Überdies kann ein Melanom an der Oberfläche und unter der Oberfläche der Haut analysiert werden.

Eine andere Ausführungsform dieser Erfindung ist ein Gerät für nicht invasive, schnelle, direkte empfindliche In-

vivo-Untersuchungen verschiedener Punkte und Zonen menschlicher Haut einschließlich Akupunkturpunkten (AC-Punkte) im Bereich von etwa 800 bis 4000 cm^{-1} . Akupunktur ist ein altes chinesisches Diagnose- und Behandlungsverfahren (Ralph Alan Dale, Demythologizing Acupuncture, Alternative Complementary Therapies (1997)), bei dem Elektroden oder Nadeln an spezifischen Punkten verwendet werden, die mit bestimmten Organen verbunden sind. Diese Akupunkturpunkte sind durch einen vergleichsweise niedrigen elektrischen Widerstand gekennzeichnet und sehr gut erfaßt bzw. abgebildet. Der Gegenstand dieser Erfindung schließt die Oberflächenantwort verschiedener Akupunkturpunkte des menschlichen Körpers unter Verwendung des FEW-FTIR-Verfahrens dieser Erfindung für die Zwecke einer Charakterisierung des Krankheitszustands und Entwicklung neuer Akupunkturverfahren ein. Fig. 12a und b repräsentieren IR-Spektren, die eine extrem empfindliche Oberflächenantwort mehrerer AC-Punkte und Differenzen zwischen verschiedenen AC-Punkten, z. B. zwischen der Unterlippe 125 (RN24, Mitte der mentolabialen Rille) (Wu Shao, Body Model for Both Meridian and Extraordinary Points of China, GB123 46-90), linkem Ohr 126, linker Ellenbogenfalte 127 (LUS, Ellenbogenfalte), im Spektralbereich von 800 bis 1800 cm^{-1} zeigen. In Fig. 12b sind Spektren dargestellt, die mit den gleichen Punkten im Spektralintervall 2500 bis 4000 cm^{-1} verbunden sind. Gemäß dieser Erfindung und dem Gerät, das durch die Erfindung geschaffen wird, können die Spitzenpositionen, Intensitäten, Breiten, Formen und Intensitätsverhältnisse von Bändern verglichen werden. Insbesondere reagiert der Amid-I- und -II-Bereich empfindlich auf eine Watson-Crick-Paarbildung. Zum Beispiel repräsentiert das Auftreten der Struktur bei 1585 cm^{-1} , das in den Spektren der Unterlippe 125, des linken Ohrs 126 und der linken Ellenbogenfalte 127 erscheint, C=O-Streckmoden in Guanin. Ein anderer wichtiger Fingerabdruckbereich von AC-Punkten menschlicher Haut, der im Bereich 2500 bis 4000 cm^{-1} nachgewiesen wird (siehe Fig. 12b), betrifft CH-, NH- und O-H-Schwingungen, wie für die Unterlippe 128, das linke Ohr 129 und den linken Arm 130 demonstriert ist. Es ist ersichtlich, daß ausgeprägte Differenzen zwischen den verschiedenen Spektren in dem System von Amid A (Proteinen), das mit N-H- und O-H-Gruppen verbunden ist, und Lipidgruppen offensichtlich sind, die mit C-H-Schwingungen verbunden sind.

Fig. 13a und 13b zeigen Ergebnisse für zwei AC-Punkte am Handgelenk, nämlich LU8(8P) und LU9(9P). Insbesondere in Fig. 13a sind die Ergebnisse der IR-Spektren (800 bis 1800 cm^{-1}) für LU8, 131 und LU9, 132 dargestellt. Im Spektralbereich 800 bis 1200 cm^{-1} , der Phosphatgruppen in Lipidsystemen von menschlichem Gewebe zugeschrieben wird, werden enorme Unterschiede beobachtet. Der höhere Wellenzahlbereich für die gleichen AC-Punkte LU8 (8P) 133 und LU9 (9P) 134 ist in Fig. 13b veranschaulicht, wo die C-H-Schwingungen infolge aliphatischer Ketten in Lipiden große Differenzen zeigen. In den folgenden detaillierten Spektren (Fig. 14a bis e) ist eine spektrale Entfaltung der Haupt-Amidbänder (1450–1800 cm^{-1}) im MIR-Bereich dargestellt. In Fig. 15a bis e sind die gleichen AC-Punkte in einem anderen Spektralintervall von C-H-Schwingungen im Bereich von 2800–3000 cm^{-1} dargestellt.

Die Bänder 51, 52 und 54 sind Schwingungen von wasserstoffgebundenen Amid-II-, Amid-I- und Carbonylgruppen zugeordnet. In den drei Fällen der Lippe, des Ohrs und der Ellenbogenfalte tritt ein zusätzliches Band bei 1590 cm^{-1} (55) auf (Fig. 14a–c), das mit einer Watson-Crick-Basenpaarbildung verbunden ist. In Fig. 14d und e sind dieses Band sowie die Karbonylbänder (54) nicht vor-

handen. Diese Unterschiede sind mit dem Gehalt von Lipiden und/oder Proteinen im Gewebe verbunden. Die vorliegende Erfindung ist im Erscheinen und Nichterscheinen der Bandstrukturen 53, 54 und 55 sowie im Intensitätsverhältnis I(52)/I(51) entsprechend den Amid-I- und Amid-II-Bändern verkörpert. Eine andere Aufgabe der vorliegenden Erfindung betrifft die Bänder 56, 57, 58, 59 und 60 im Wellenzahlbereich 2800 bis 3000 cm^{-1} (siehe Fig. 15a bis e). In allen in Fig. 15a bis 15e angezeigten Fällen ist die Spitze 56 einem C-H-symmetrischen Strecken in Methylgruppen (CH_2) von Lipiden zugeordnet. Die bei etwa 2922 cm^{-1} gelegene Bandstruktur wird als das asymmetrische Strecken von Methylgruppen CH_2 in Lipiden identifiziert. Die Spitze 58 bei ungefähr 2956 cm^{-1} entsteht aus einer asymmetrischen Streckschwingung einer Methylgruppe (CH_3). Vergleicht man die Spektren in Fig. 15a, b, c und e unterscheidet sich das mit dem linken Handgelenk, dem Akupunkturpunkt LU9 (9P) verbundene Spektrum in der schwachen Intensität des Bandes 58 (siehe Fig. 15c). Diese Änderung hängt von der Schwingung der Methylgruppe ab. Eine spezielle Situation ergibt sich für das Spektrum von Fig. 15d (AC-Punkt 8P oder LU8). Hier beherrscht die Spitze 58 das Spektrum. Außerdem werden zwei neue Bandmerkmale nahe 2874 cm^{-1} (59) und 2893 cm^{-1} (60) beobachtet, die von einer symmetrischen Streckschwingung einer Methylgruppe (CH_3) und einer C-H-Streckung herrühren.

Man kann erkennen, daß die bei 2972 cm^{-1} auftretende ausgeprägte Spitze 58 im Vergleich mit den in Fig. 15a, b, c und e gezeigten Bandstrukturen 58 im wesentlichen zu höheren Wellenzahlen ($\Delta\nu \sim 16 \text{ cm}^{-1}$) verschoben ist. Die Spitzen 58, 59 und 60 können daher als Fingerabdrücke für AC-Diagnosen verwendet werden.

Schließlich ist die in dieser Erfindung beschriebene Technologie der FEW-FTIR-Infrarotspektroskopie nicht nur sehr empfindlich für Krebs- und Präkanzerosediagnose von menschlichem Gewebe, sondern auch für die Diagnosen normaler Haut und sogar für die Charakterisierung spezifischer Akupunkturpunkte. Diese Erfindung betrifft insbesondere die Oberflächenreaktion von menschlichem Gewebe einschließlich AC-Punkten.

Es versteht sich, daß die Erfindung nicht ausschließlich auf die speziellen Ausführungsformen auf menschlicher Haut beschränkt ist, die hierin veranschaulichend beschrieben wurden, sondern die Charakterisierung des Krankheitszustands anderer Formen davon innerhalb des Umfangs der folgenden Ansprüche einschließt.

Patentansprüche

1. Gerät zur spektroskopischen Analyse von menschlichem oder tierischem Gewebe oder Körperfluiden, wobei das Gerät aufweist:

- eine Strahlungsquelle (24) zum Erzeugen von Strahlung im mittleren Infrarotbereich in dem Spektralbereich von 3 μm bis 20 μm ;
- zumindest eine extrem empfindliche faseroptische Sonde (27), die dafür angepaßt ist, mit dem Gewebe oder Körperfluid in direkten Kontakt gebracht und im Modus einer gedämpften Totalreflexion (ATR) betrieben zu werden;
- einen Detektor (30) zum Nachweisen von vom Gewebe oder Körperfluid reflektierter Strahlung, und
- ein Fourier-Transformations-Infrarotspektrometer (23), das Signale vom Detektor empfängt und im mittleren Infrarotbereich betrieben wird.

2. Gerät nach Anspruch 1, mit mehreren austauschbaren faseroptischen Sonden (32, 34, 36, 38).

3. Gerät nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Gerät dafür eingerichtet ist, IR-Spektren in Echtzeit direkt zu messen.
4. Gerät nach Anspruch 1, mit einer Einrichtung (31) zum Speichern spektroskopischer Referenzdaten, die für Gewebe oder Fluid einer ersten Art repräsentativ sind, und zum Speichern spektroskopischer Daten, die für Gewebe oder Fluid einer zweiten Art repräsentativ sind, das zu analysieren ist.
5. Gerät nach Anspruch 4, mit einer Einrichtung (31) zum Vergleichen der spektroskopischen Referenzdaten und der spektroskopischen Daten.
6. Gerät nach Anspruch 1, mit einer Einrichtung (31) zum Auswählen vorgegebener Wellenlängenbereiche, in denen das Spektrometer (23) arbeitet.
7. Gerät nach Anspruch 1, worin die Sonde (27) dafür eingerichtet ist, lebendes Gewebe oder Fluid in vivo zu messen.
8. Gerät nach Anspruch 1, worin das Fourier-Transformations-Spektrometer (23) spektroskopische Daten des Gewebes auf einer molekularen Ebene mißt.
9. Gerät nach Anspruch 1, worin das Fourier-Transformations-Spektrometer (23) als ein faseroptisches Spektrometer mit abklingender Welle betrieben wird.
10. Gerät nach Anspruch 1, worin die Sonde für eine perkutane Analyse von Gewebe oder Körperfluiden angepaßt ist.
11. Gerät für eine spektroskopische Analyse von Flüssigkeiten, wie z. B. Wasser, Getränken, Öl, Pharmazeutika, Lösungsmitteln, mit:
 - einer Strahlungsquelle zum Erzeugen von Strahlung im mittleren Infrarotbereich im Spektralbereich von 3 µm bis 20 µm;
 - zumindest einer extrem empfindlichen faseroptischen Sonde (27), die dafür eingerichtet ist, mit der Flüssigkeit in direkten Kontakt gebracht und im Modus einer gedämpften Totalreflexion (ATR) betrieben zu werden;
 - einem Detektor zum Nachweisen von der Flüssigkeit reflektierter Strahlung; und
 - einem Fourier-Transformations-Infrarotspektrometer, das Signale vom Detektor empfängt und im mittleren Infrarotbereich betrieben wird.
12. Gerät nach Anspruch 1 oder 11, worin die faseroptische Sonde eine polykristalline Faser, insbesondere eine Silberhalogenidfaser $\text{AgBr}_x\text{Cl}_{1-x}$, aufweist.
13. Gerät nach Anspruch 1 oder 11, worin die faseroptische Sonde mit einem größeren Biegeradius als 10 bis 100 Faserdurchmesser biegsam ist und worin die Faserdurchmesser 1 mm oder weniger betragen.
14. Gerät nach Anspruch 1 oder 11, worin die faseroptische Sonde einen niedrigen optischen Verlust mit 0,1 bis 0,5 dB/m bei einem Wellenlängenbereich von 10 µm mit einer hohen Empfindlichkeit auf molekulare Banden im mittleren Infrarotbereich aufweist.
15. Gerät nach Anspruch 1 oder 11, worin die faseroptische Sonde eine hohe Durchlässigkeit von Strahlung im spektralen Bereich von 800 bis 4000 cm^{-1} hat.
16. Gerät nach Anspruch 1 oder 11, worin die faseroptische Sonde eine geformte Sonde, eine Nadelsonde, eine Spritze, eine Linse, ein Diffusor, ein Mikroskopkopf, ein Endoskop oder ein Katheter ist.
17. Gerät nach Anspruch 1 oder 11, worin die Spektren des Fourier-Transformations-Infrarotspektrometers (23) von Schwingungen spezifischer molekularer Gruppen und Bindungen von dem Gewebe oder der Flüssigkeit im mittleren Infrarotbereich herrühren.
18. Gerät nach Anspruch 1 oder 11, worin die Spek-

- traten des Fourier-Transformations-Infrarotspektrometers von wasserstoffgebundenen Amid-I-, Amid-II-, zyklischen und aliphatischen Karbonylgruppen im Frequenzbereich von 1480 bis 1800 cm^{-1} in Protein- und Lipidsystemen von Hautgewebe stammen.
19. Gerät nach Anspruch 1 oder 11, worin die Spektren des Fourier-Transformations-Spektrometers von Amid III, Verformungsbändern von CH_2 (Methyl), Ether- (C-O), Phosphat- (PO_2^-), Sulfat- (SO_2^-) und Zuckergruppen in Proteinen und Lipiden im Bereich von 850 bis 1500 cm^{-1} stammen.
20. Gerät nach Anspruch 11, mit einer Einrichtung (31) zum Speichern spektroskopischer Referenzdaten, die für eine Flüssigkeit einer ersten Art repräsentativ sind, und zum Speichern spektroskopischer Daten, die für eine Flüssigkeit einer zweiten Art repräsentativ sind, die zu analysieren ist, und mit einer Einrichtung zum Vergleichen der spektroskopischen Referenzdaten und der spektroskopischen Daten.
21. Gerät nach Anspruch 5 oder 20, worin der Vergleich auf die Differenzen in Spitzenpositionen spezifischer Spektralbänder zwischen normalem und pathologischem Gewebe oder normaler und pathologischer Flüssigkeit bezogen ist.
22. Gerät nach Anspruch 5 oder 20, worin der Vergleich auf Differenzen in einer Bandbreite, relativen Intensitäten und Intensitätsverhältnissen von Bändern in bezug auf Protein- und Lipidkomponenten für normales und pathologisches Gewebe oder normale und pathologische Flüssigkeit bezogen ist.
23. Gerät nach Anspruch 1 oder 11, worin die Analyse auf Akupunkturpunkte angewandt wird.
24. Gerät nach Anspruch 5 oder 20, worin der Vergleich einen Vergleich molekularer Bänder von Amid I (51), Amid II (52) und zyklischen und aliphatischen Karbonylgruppen (53, 54) einschließt.
25. Gerät nach Anspruch 5 oder 20, worin der Vergleich einen Vergleich von spezifischen Bändern (42–50) in einem niedrigen Wellenzahlbereich (5a), molekularer Bänder von Amid I (51) und Amid II (52), zyklischer und aliphatischer Karbonylgruppen (53, 54; Fig. 5b) und einem höheren Wellenzahlbereich (55 bis 57 und 58 bis 60; Fig. 5c, 5d) einschließt, wobei ein Wellenzahlbereich zwischen 2800 und 3000 cm^{-1} (55 bis 57) aliphatischen Amid-III-Ketten entspricht, und Bandstrukturen (58, 60; Fig. 5d) zwischen 3000 und 3700 cm^{-1} , die komplexen Amid-A-Bändern entsprechen.
26. Gerät nach den Ansprüchen 2 bis 11, worin die Analyse eine Messung spezifischer Bänder einschließt, die aus den Spektralintervallen von 850 bis 1800 cm^{-1} und 2500 bis 4000 cm^{-1} bestehen.
27. Gerät nach Anspruch 23, worin die Analyse auf die Amid-I- und Amid-II-Bereiche (51 bis 55; Fig. 14a bis 14e) und den CH_2 - und CH_3 -Bereich (56 bis 58; Fig. 15a bis 15e) gerichtet ist.
28. Gerät nach Anspruch 5 oder 20, worin der Vergleich einen Vergleich der molekularen Bandstrukturen im Infrarotbereich mittels Computerprogramme neuronaler Netzwerke oder mittels Computerprogramme zur Musterkennung einschließt.

Hierzu 18 Seite(n) Zeichnungen

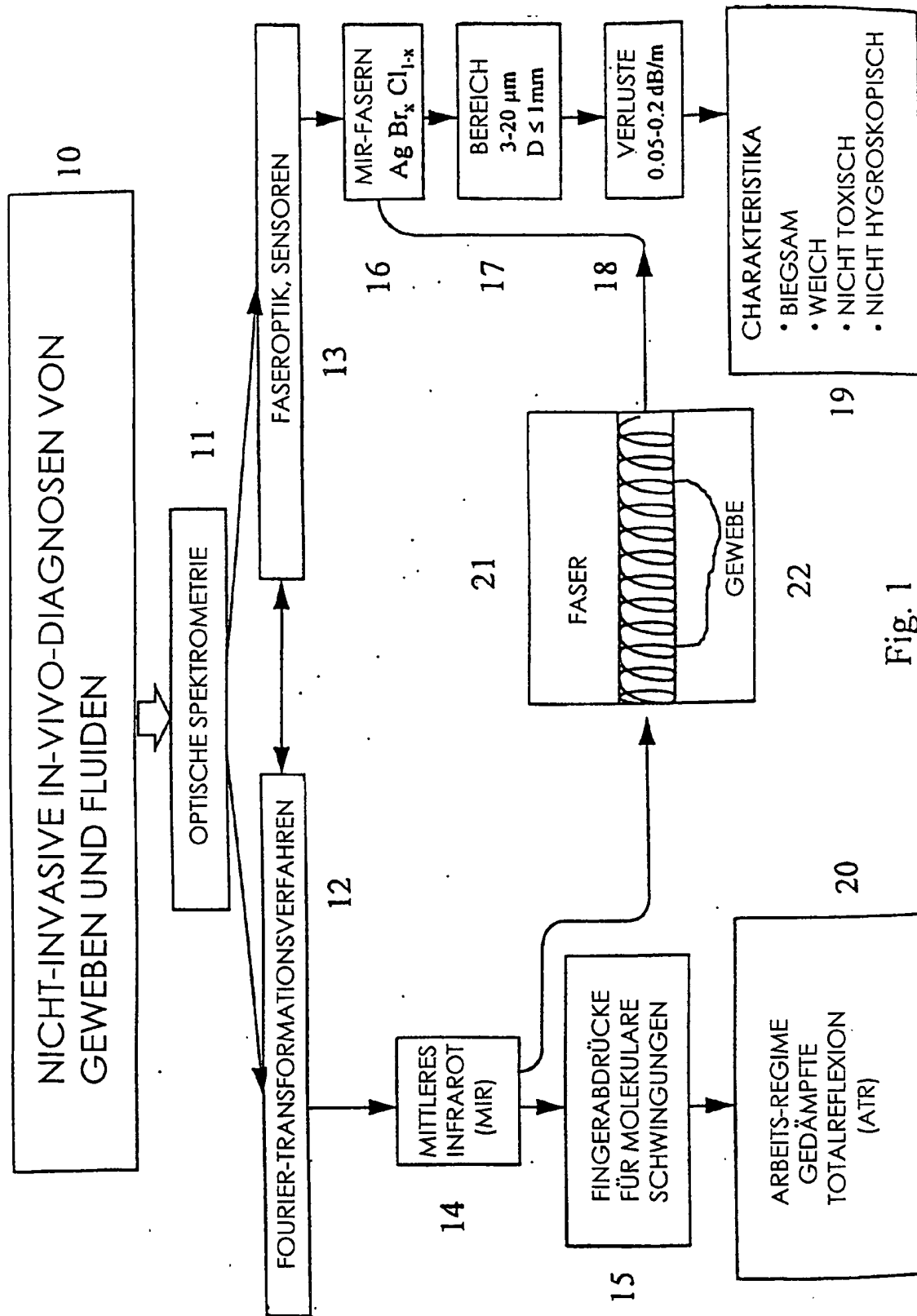


Fig. 1

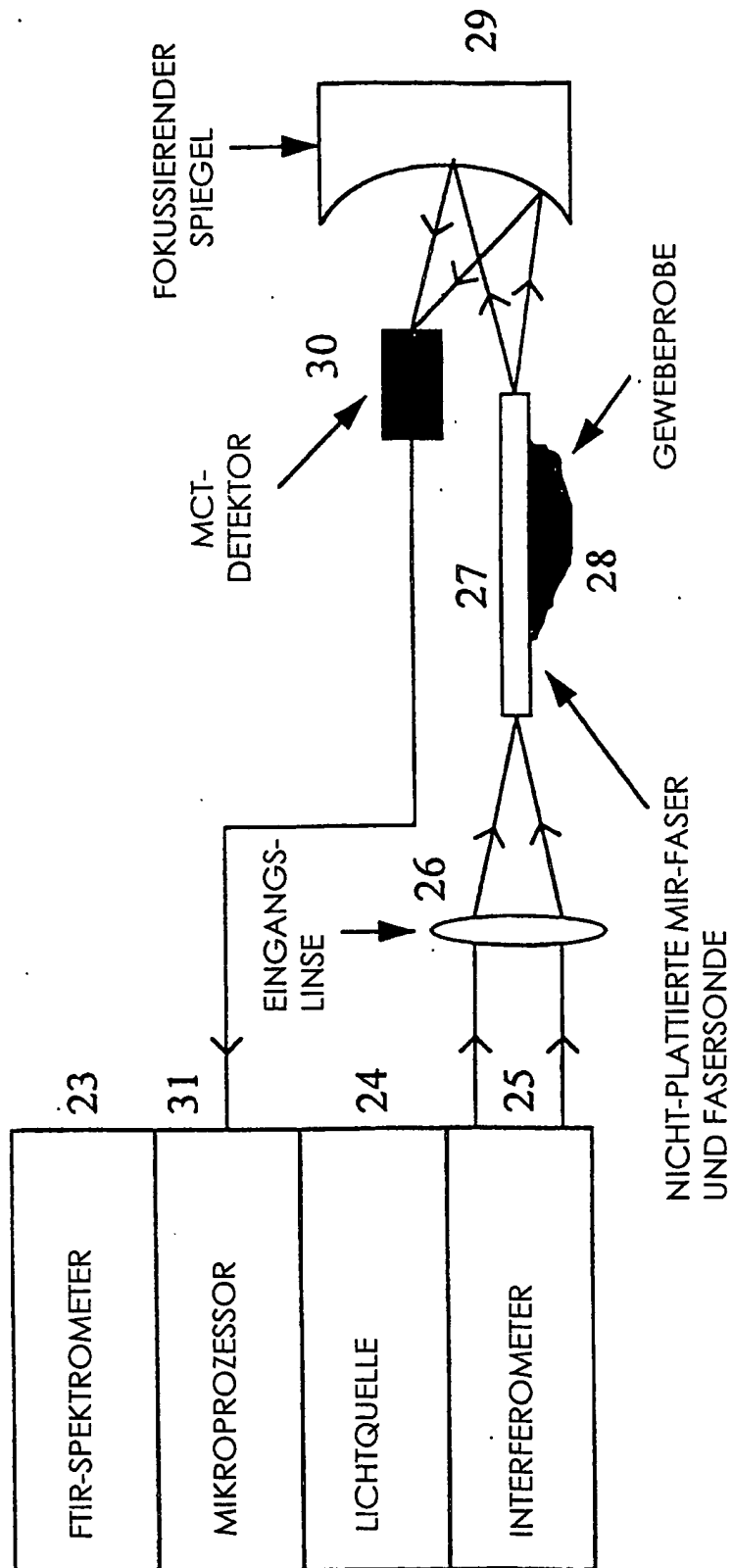


Fig. 2

SONDEN

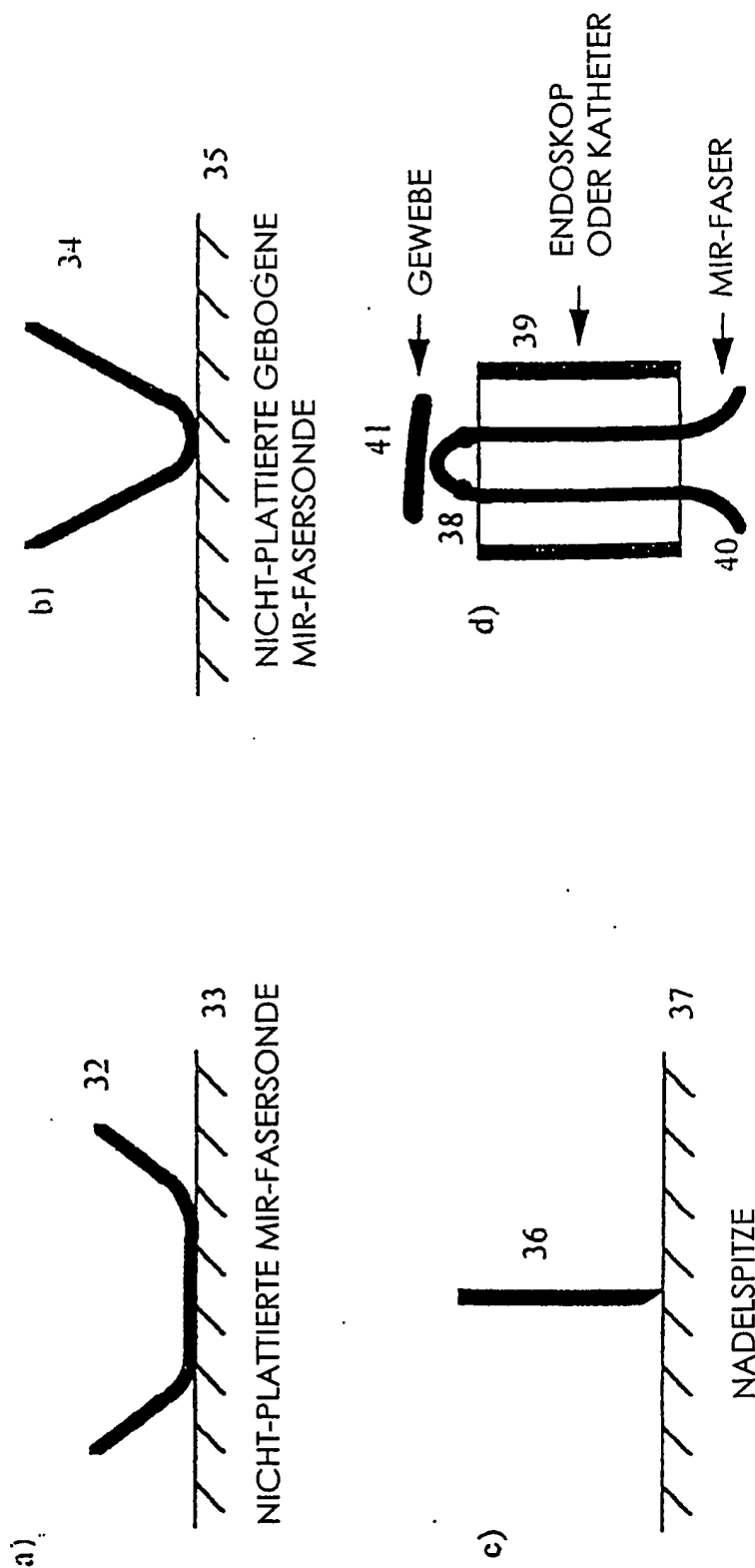
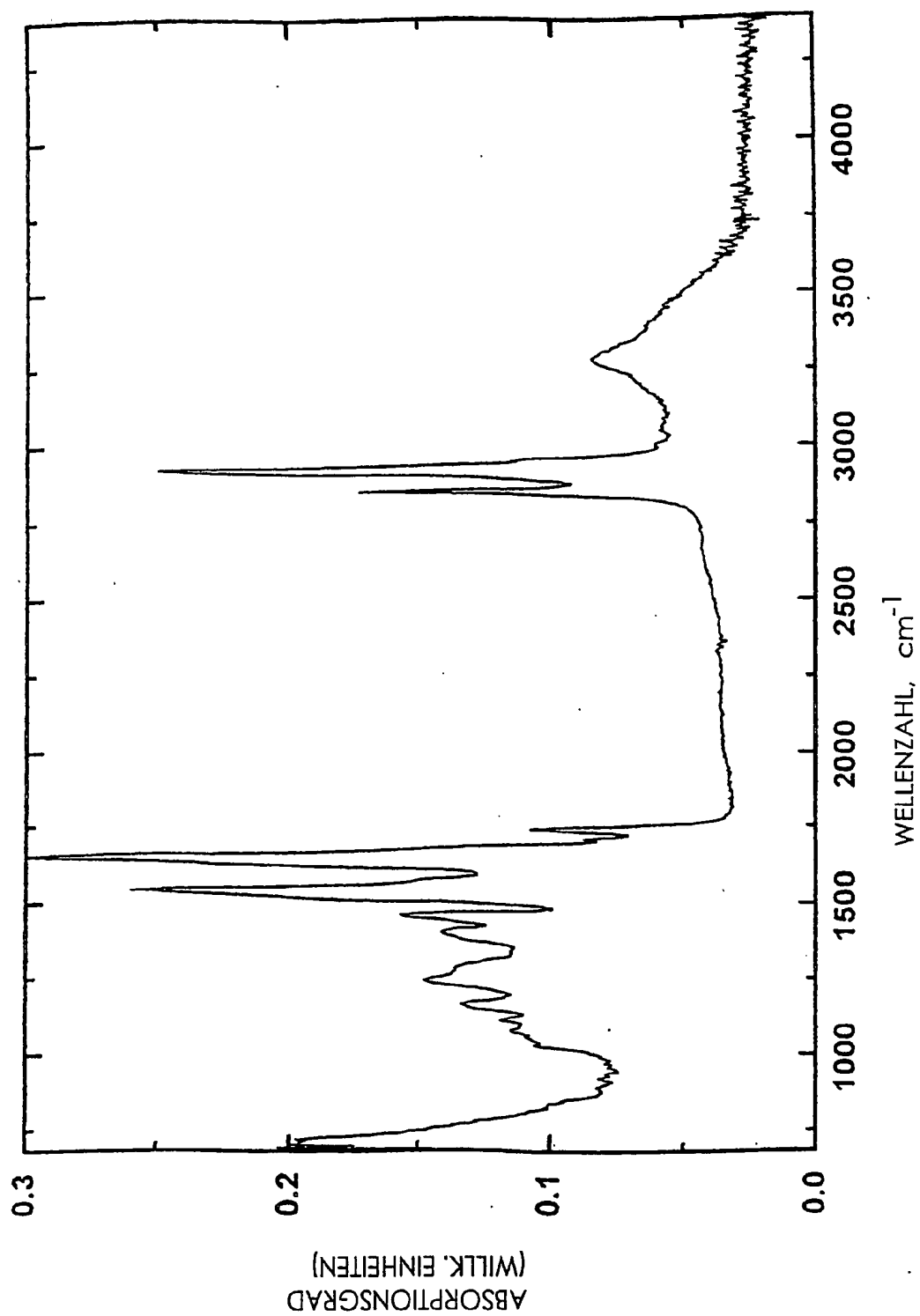


Fig. 3

Fig. 4



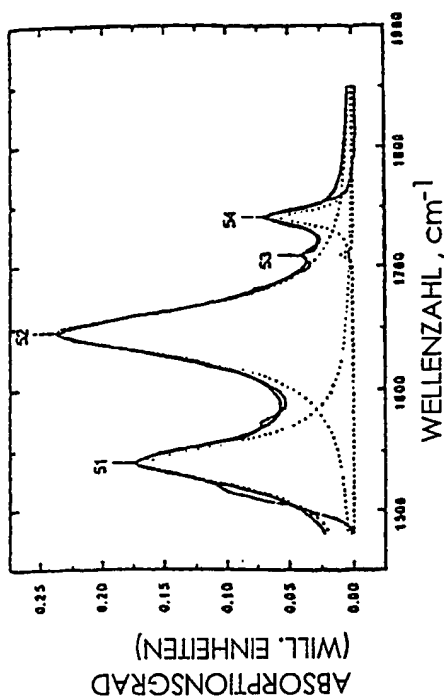


Fig. 5b

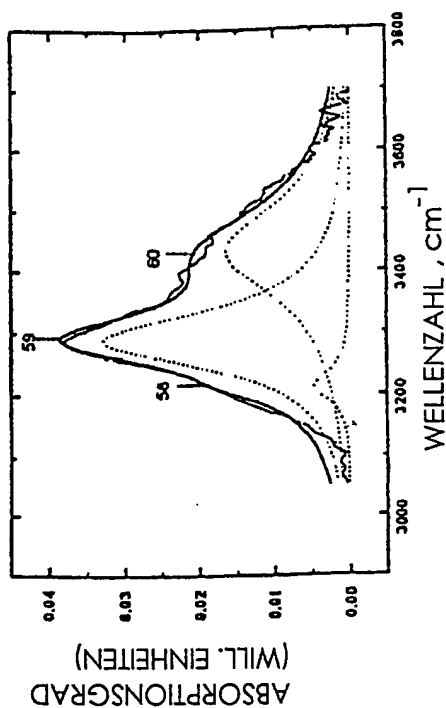


Fig. 5d

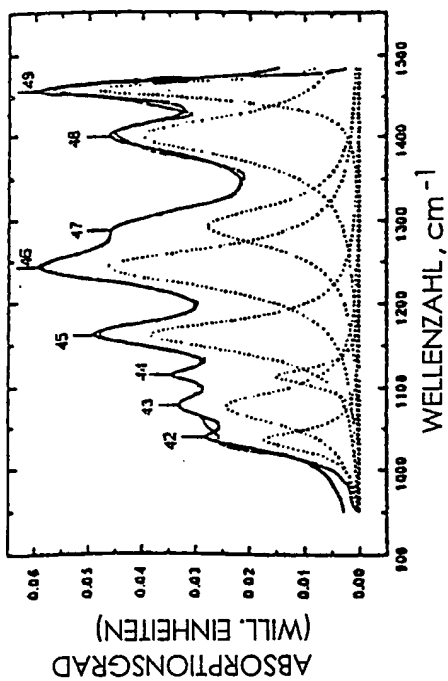


Fig. 5a

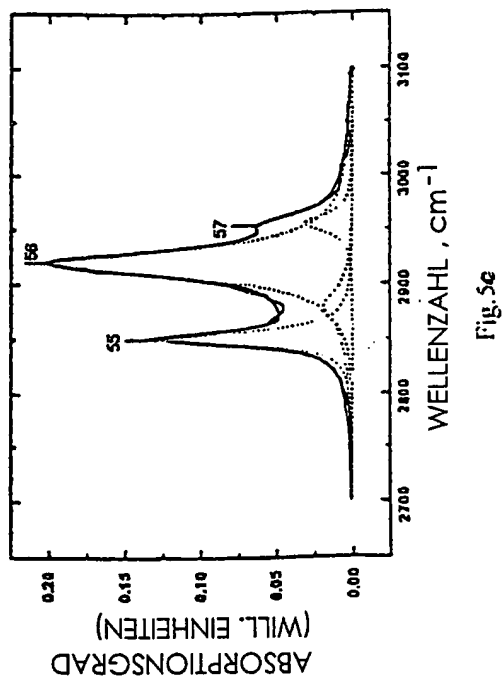


Fig. 5c

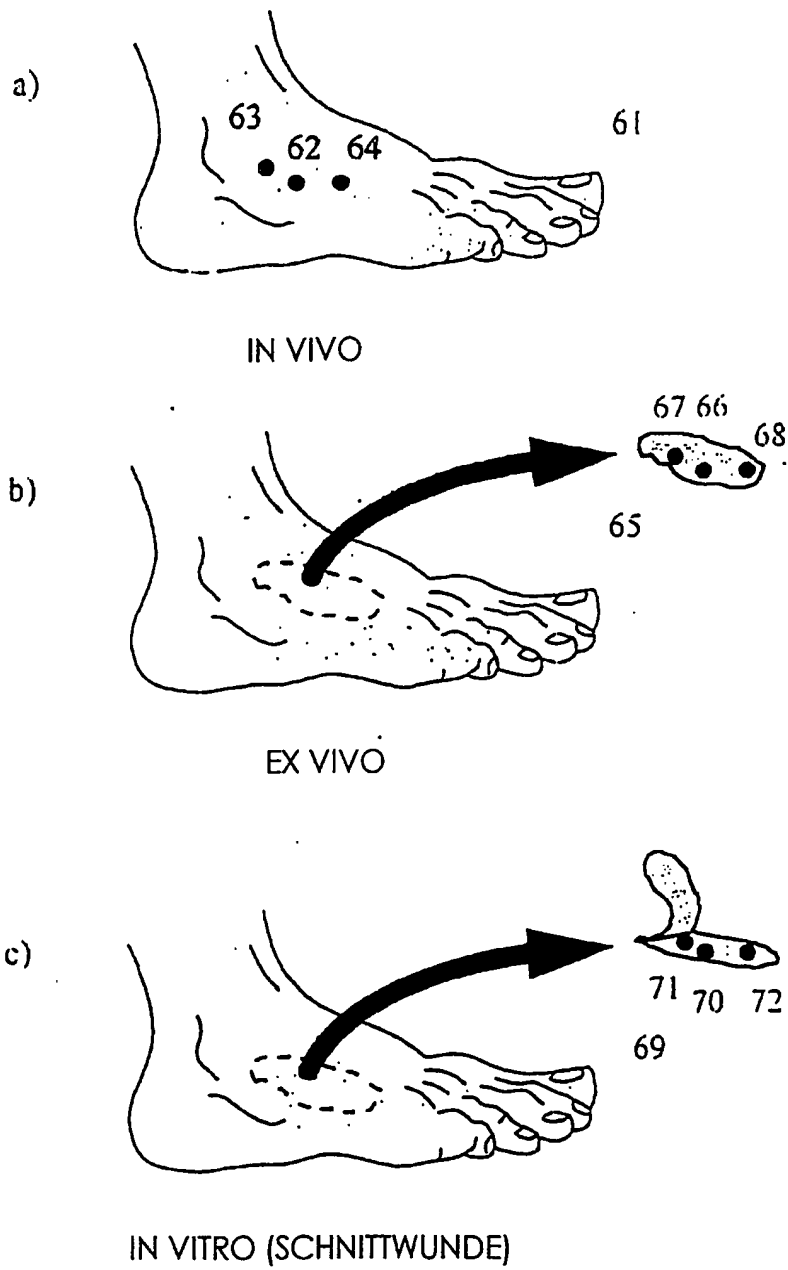
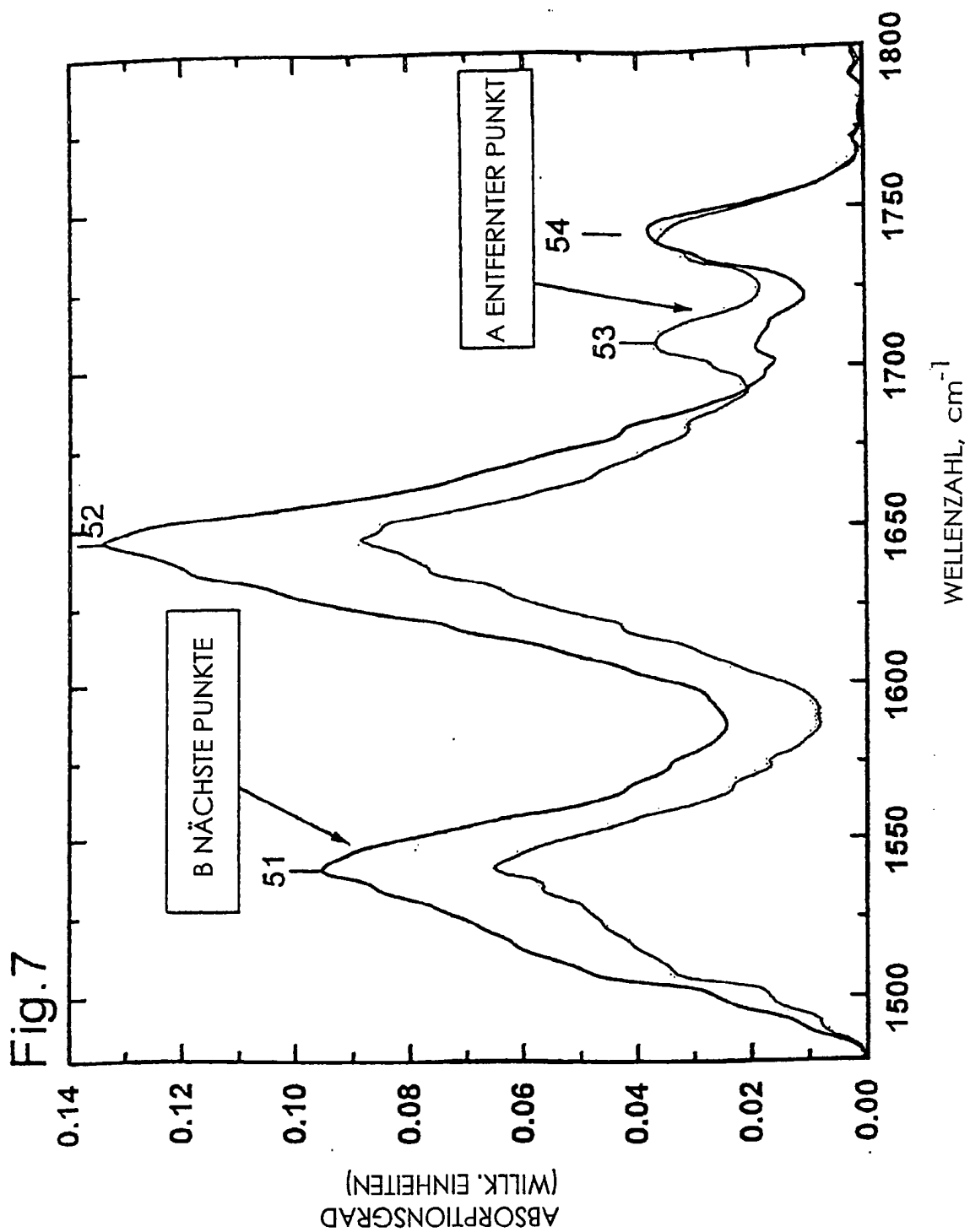
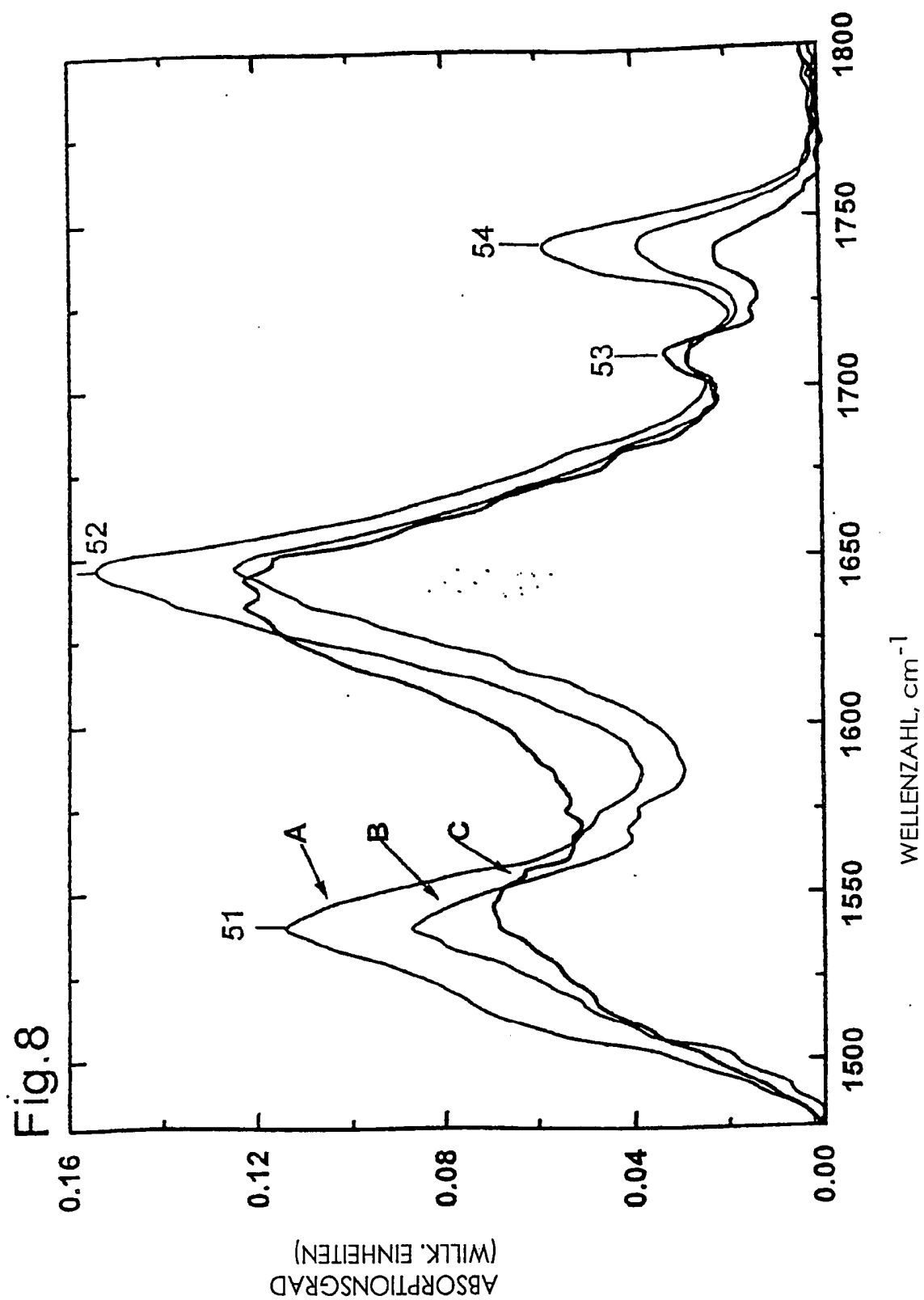


Fig. 6.





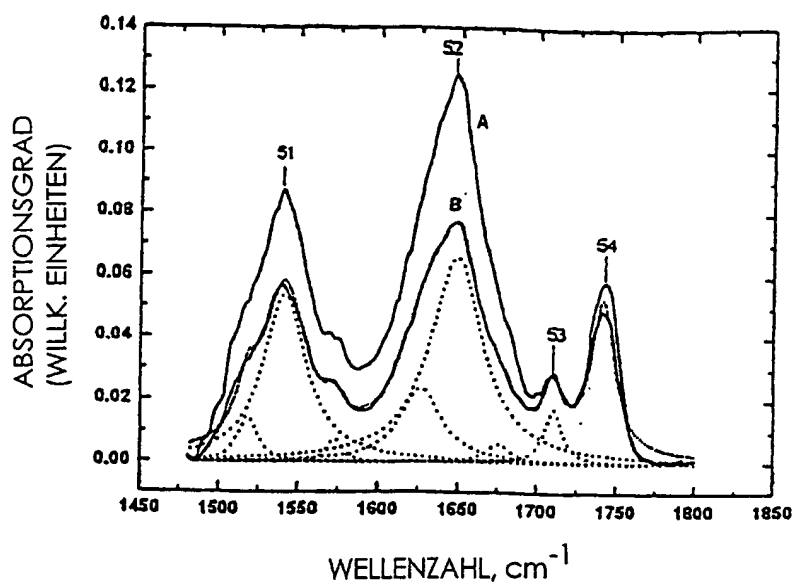


Fig. 9a

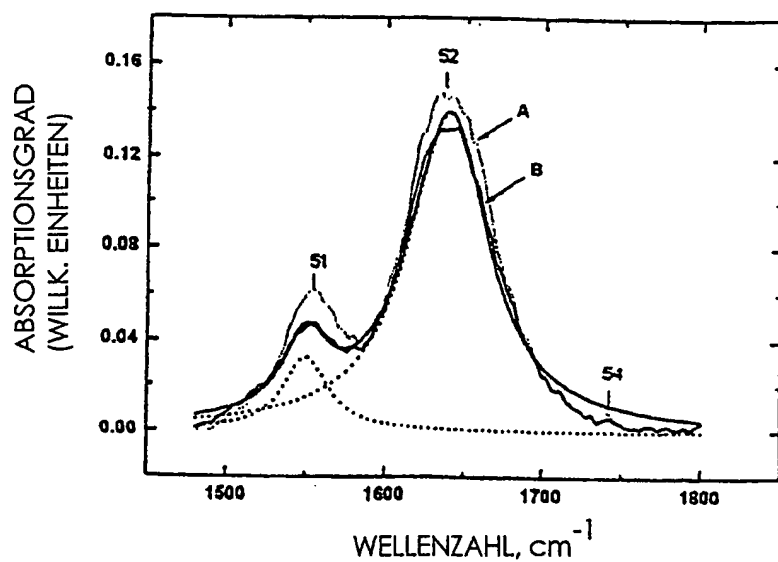


Fig. 9b

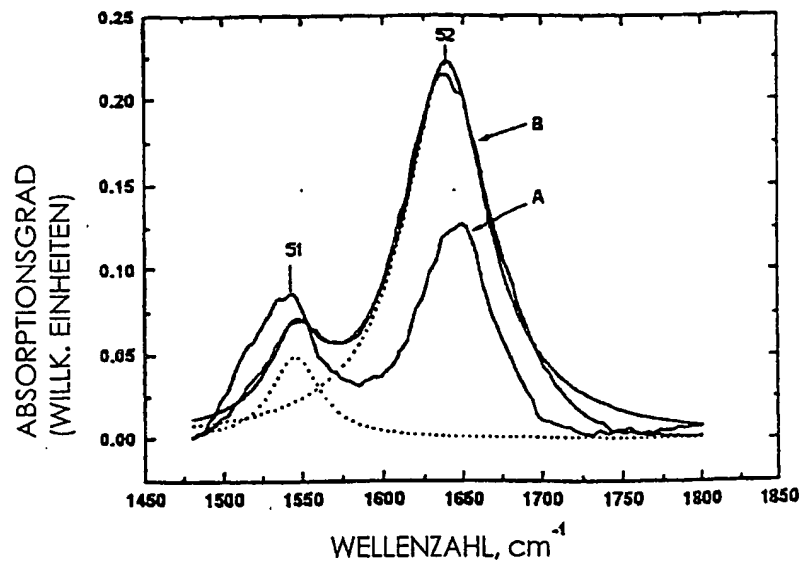


Fig. 10a

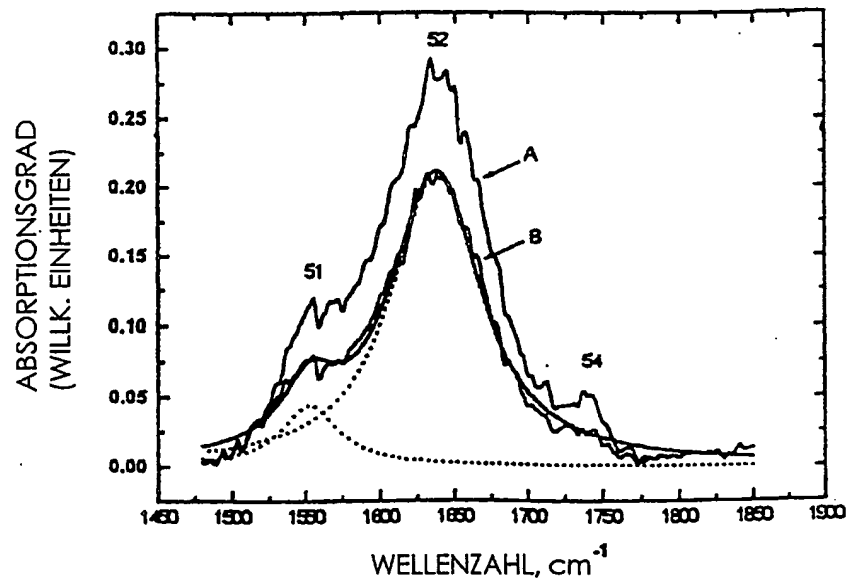
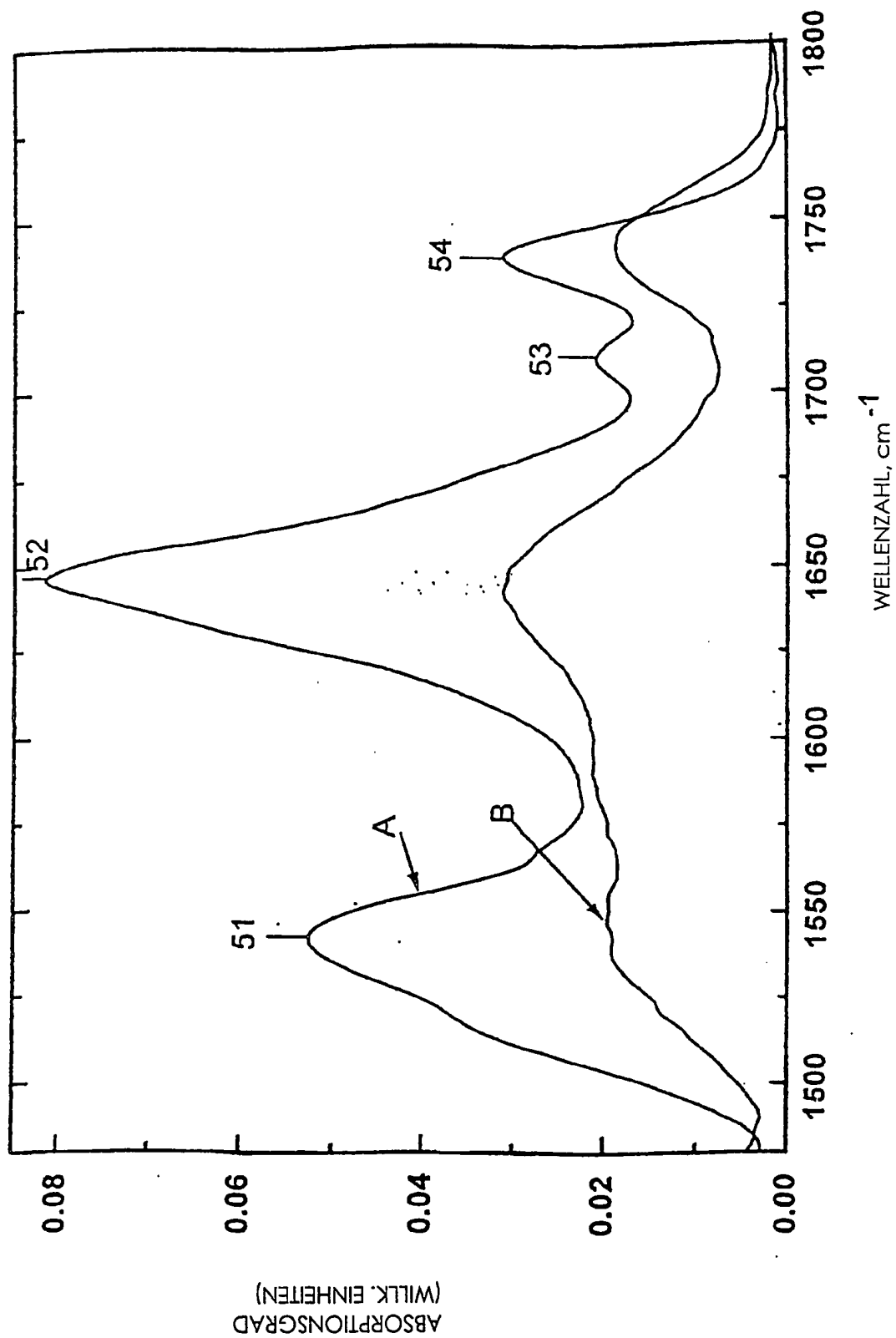


Fig. 10b

Fig. 11



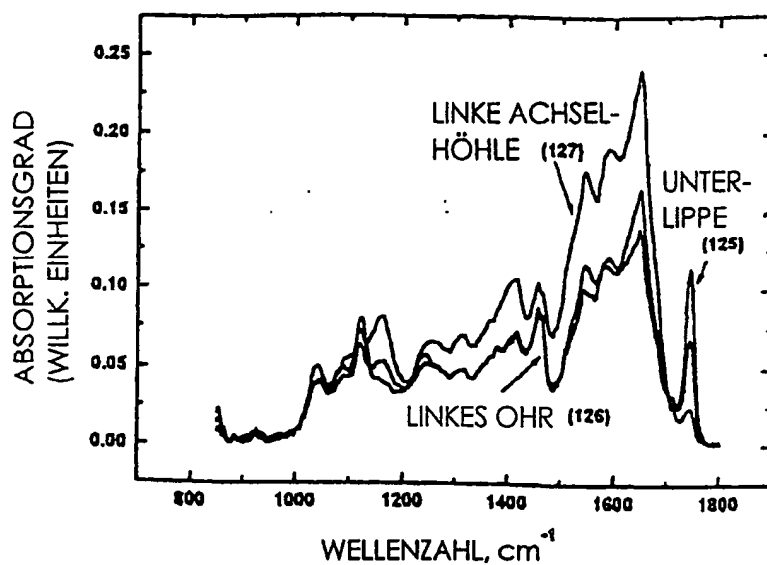


Fig. 12a

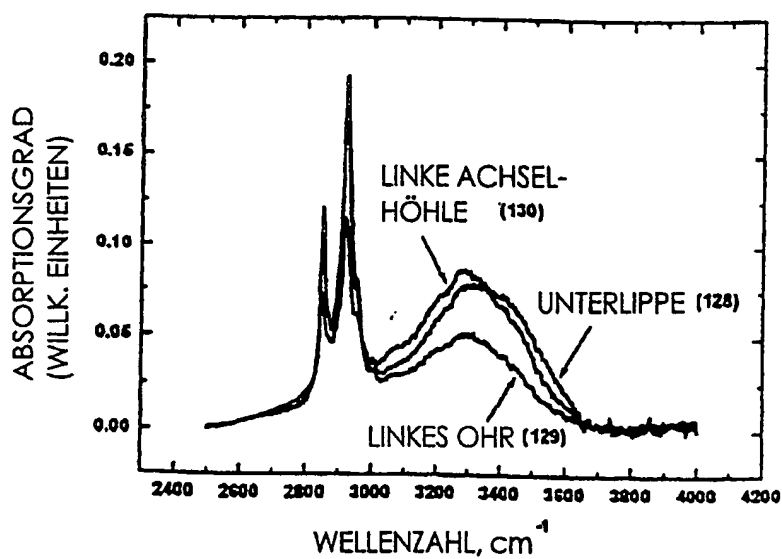


Fig. 12b

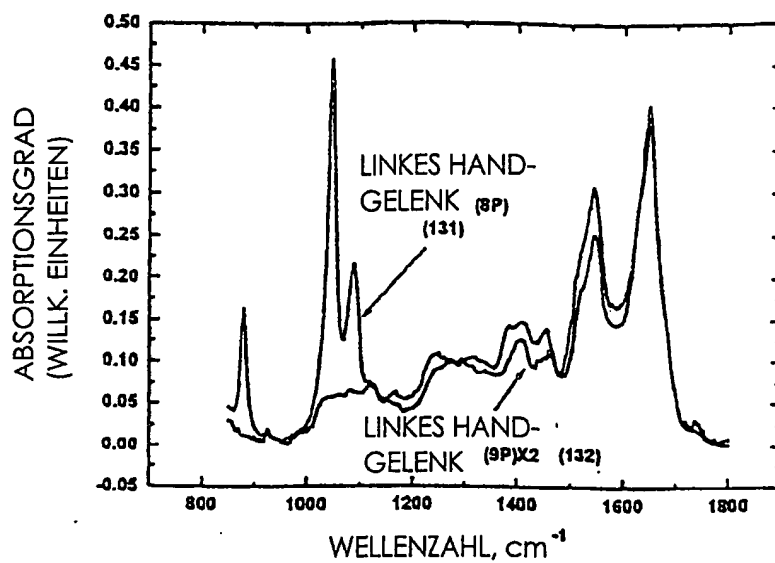


Fig. 13a.

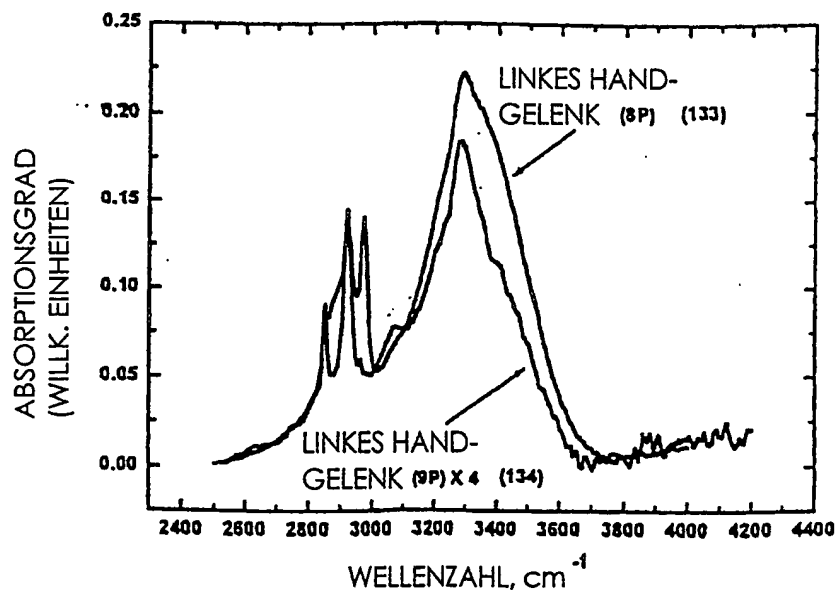


Fig. 13b

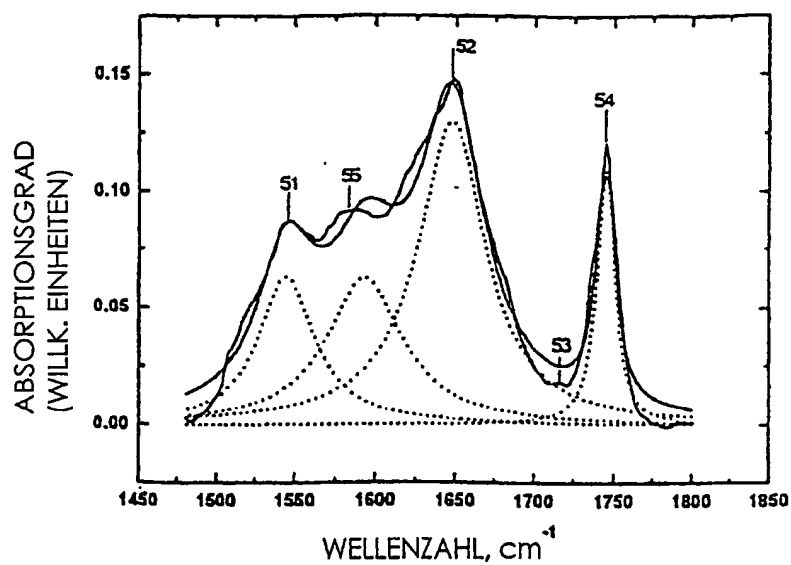


Fig. 14a

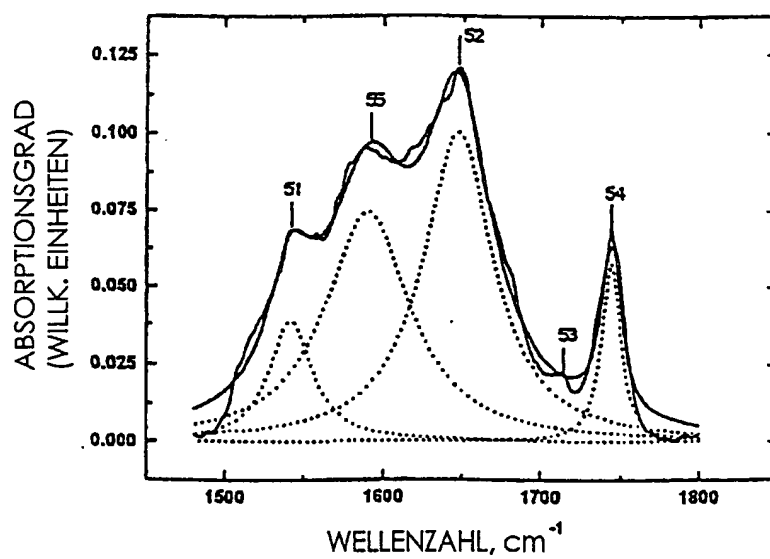


Fig. 14b

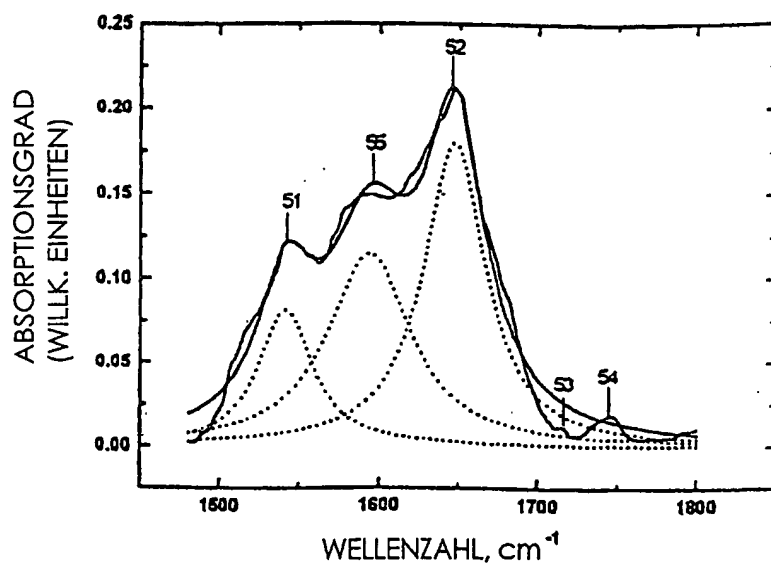


Fig. 14c

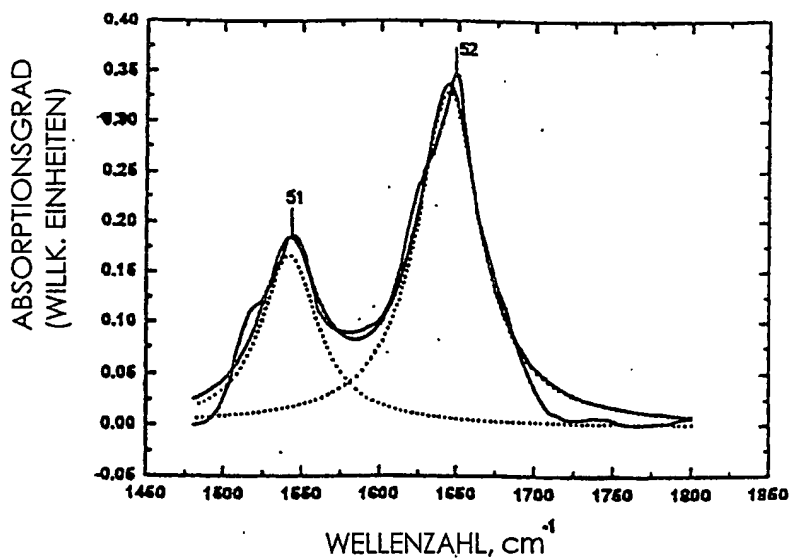


Fig. 14d

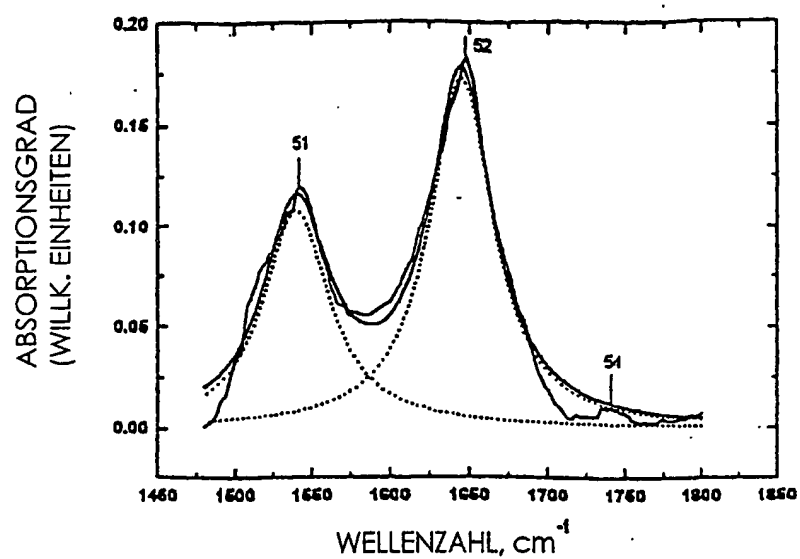


Fig. 14e

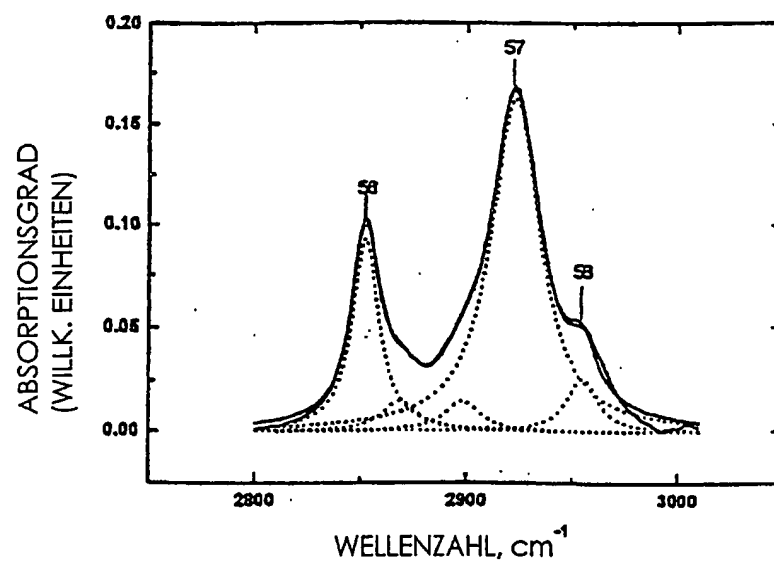


Fig. 15a

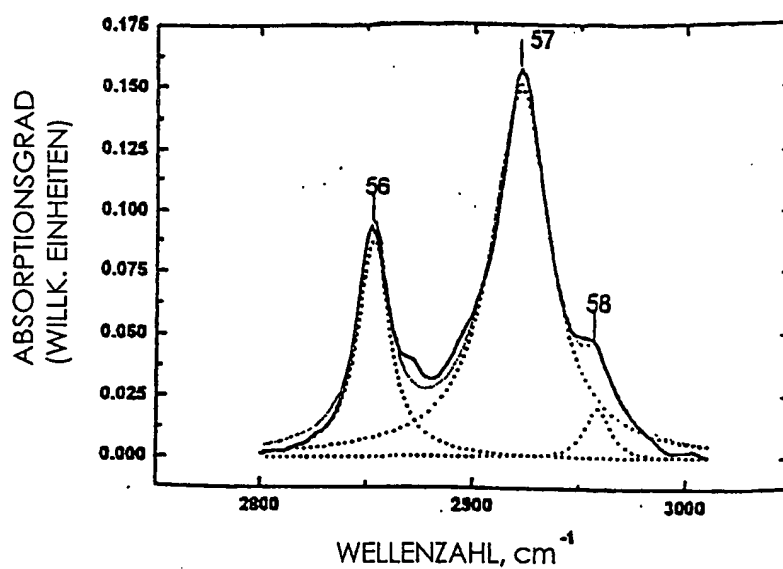


Fig. 15b

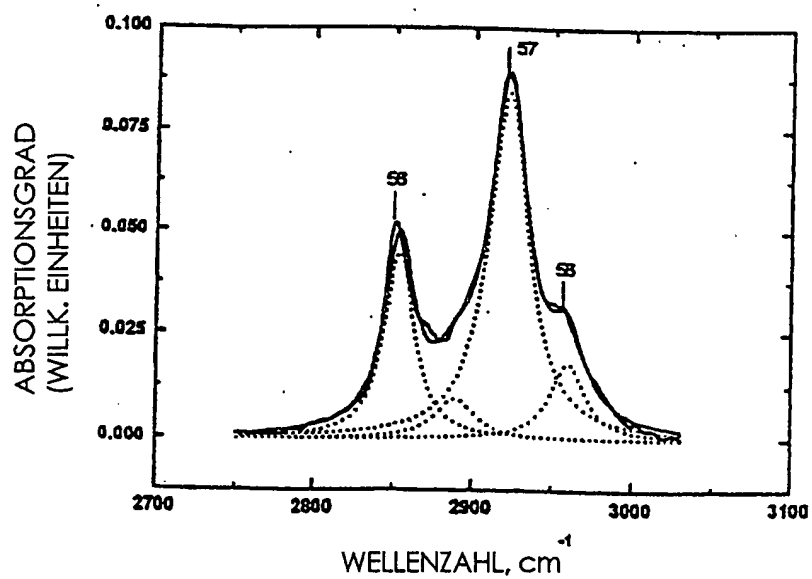


Fig. 15c

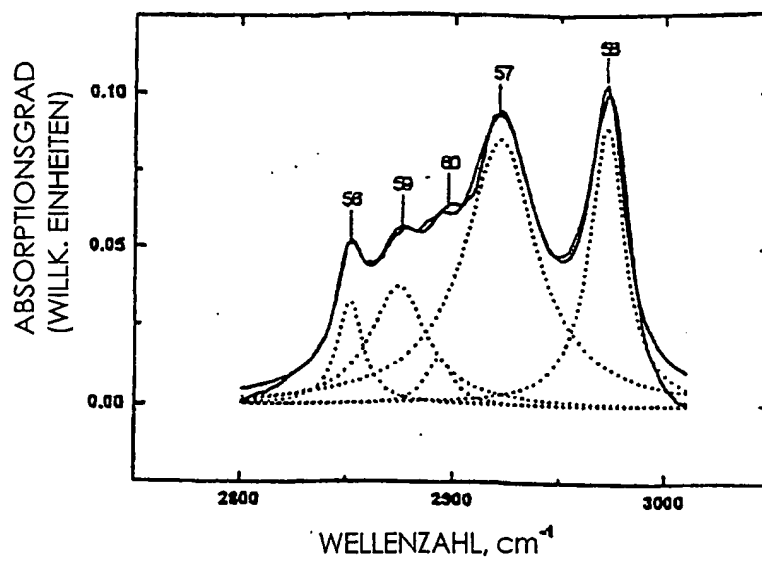


Fig. 15d

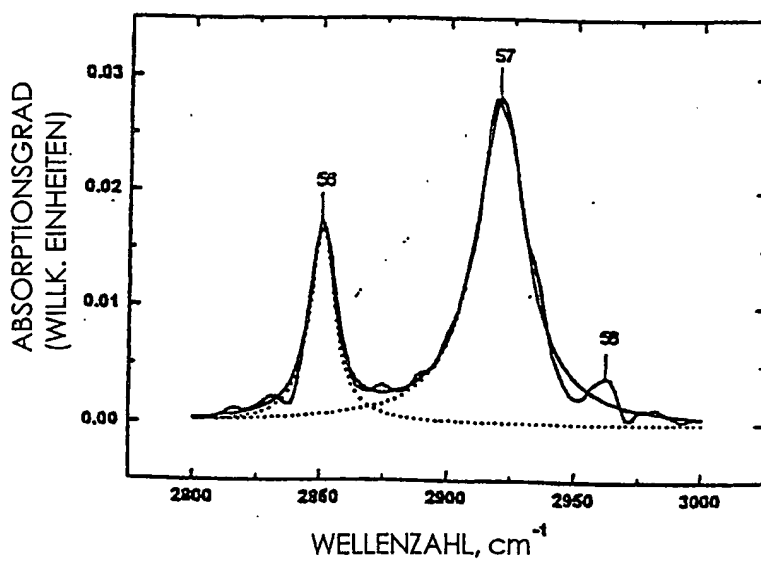


Fig. 15e